COUNTWAY LIBRARY
HC 6EB2

BOSTON
MEDICAL LIBRARY
8 THE FENWAY

NAUNYN-SCHMIEDEBERGS

ARCHIV

FÜR

EXPERIMENTELLE PATHOLOGIE

UND

PHARMAKOLOGIE

UNTER MITWIRKUNG VON FACHGENOSSEN

HERAUSGEGEBEN VON

DR. L. KREHL † UND DR. W. STRAUB

EMER. PROF. DER SPEZIELLEN PATHOLOGIE UND THERAPIE IN HEIDELBERG

PROF. DER PHARMAKOLOGIE IN MÜNCHEN

191. BAND

MIT 238 TEXTABBILDUNGEN UND 3 TAFELN

BERLIN

VERLAG VON F. C. W. VOGEL

1939

29498

CATALOGUED
APR 12 1939
F. K. M.

BOSTON MEDICAL
APR 12 1939
LIBRARY

Printed in Germany

Inhalt des 191. Bandes.

Seite

Arnold, Otto-Heinrich, Grumbrecht, Paul und **Loeser, Arnold,** Organveränderungen und Allgemeinreaktion bei intrauteriner Anwendung von oestrogenen Substanzen. Mit 4 Textabbildungen 192

Baranyai, P. s. **A.** v. Jeney.

Bauer, Hellmut und **Reindell, H.,** Zur Kenntnis der Ursachen der Kumulierungserscheinungen der Digitalisglykoside. V. Mitteilung: Zeichen der Empfindlichkeit 311

Bauer, Hellmut und **Reindell, H.,** Zur Kenntnis der Ursachen der Kumulierungserscheinungen der Digitalisglykoside. VI. Mitteilung: Beitrag zur Digitoxinwirkung auf die Endschwankung der Herzstromkurve. Mit 2 Textabbildungen 322

Bergstermann, H., und **Krauskopf, Br.,** Über die krampfverstärkende Wirkung unterschwelliger Blausäuredosen bei Brucin, Hydrastin, sowie über die Wirkung von Kombinationen unterschwelliger Blausäuredosen mit Coramin und Veratrin 46

Bergstermann, H., Nöcker, P. A., und **Krauskopf, Br.,** Fällungsreaktion zwischen den Pyridinderivaten α-Picolin, β-Picolin und Kollidin mit Phenolderivaten. Mit 1 Textabbildung 55

Bomskov, Chr. und **Schneider, Erich,** Über Beziehungen des Vitamins E zur Ovarial- und Schilddrüsenfunktion. Mit 13 Textabbildungen 715

Brock, Norbert, Druckrey, Hermann und **Herken, Hans,** Der Gewebsstoffwechsel nach Schädigung und physiologischer Erregung. Mit 7 Textabbildungen 687

Brockmeier, Jutta s. Wolfgang Heubner.

Brückmer, L., s. P. Martini.

Bucher, Karl, Über den Mechanismus der Leukopenie nach intravenöser Glykogenzufuhr. VIII. Mitteilung über Blutglykogen. Mit 2 Textabbildungen 587

Dienst, Cornelius, Experimentelles über Hypoglykämie und hypoglykämischen Shok. Mit 7 Textabbildungen 649

Dominicus, K. s. P. Martini.

Druckrey, Hermann s. Norbert Brock

Dybing, Ottar, s. Klaus Hansen.

Ebster, Hermann, Über die Wirkung der Mistel auf das Elektrokardiogramm des Froschherzens. Mit 3 Textabbildungen 19

Eger, W., und **Morgenstern, V.,** Experimentelle Untersuchungen zur Glykogenbildung im weißen und braunen Fettgewebe 76

Frey, Ernst, Die Förderung der Muskelzuckung durch Alkohol als Erholungshemmung. Mit 7 Textabbildungen 621

Gebhardt, H., Über das chlorogensaure Kalicoffein. Mit 9 Textabbildungen 696

Gerstenberg, H. W. s. F. Meythaler.

Gross, F. s. K. Matthes.

Grumbrecht, Paul s. Otto-Heinrich Arnold.

Haas, Hans T. A., Untersuchungen über die pharmakologische Beeinflussung vegetativer Zentren 119

Seite

Hansen, Klaus und **Dybing, Ottar,** Die narkotische Stärke des Deutero-Alkohols im Vergleich mit Äthylalkohol 275

Hasama, Bun-ichi, Über die bioelektrische Reaktion des isolierten Großhirns auf verschiedene Nervengifte. Mit 5 Textabbildungen 553

Hauschild, F., Zur Pharmakologie des 1-Phenyl-2-methylaminopropans (Pervitin). Mit 6 Textabbildungen 465

Heim, Fritz, Der Einfluß des Harnstoffs auf die Quellung und Permeabilität von Froschmuskulatur. Mit 1 Textabbildung 212

Heim, Fritz, Der Einfluß des Harnstoffs auf das Froschherz. Mit 6 Textabbildungen 226

Heim, Fritz, Der Einfluß von Harnstoff auf die Strophanthinwirkung am isolierten Froschherz. Mit 6 Textabbildungen 581

Heise, Rudolf s. Peter Holtz.

Henze, C. s. A. Jarisch.

Herken, Hans s. Norbert Brock.

Heubner, Wolfgang und **Brockmeier, Jutta,** Zur Frage der Dosenverteilung bei der Auswertung des Oestrons 355

Hinsberg, K., und **Rodewald, W.,** Über die Wirkung von Porphyrin auf die Hypophyse, besonders auf die Melanophorenhormonausschüttung. Mit 3 Textabbildungen 1

Hoff, E. s. E. Werle.

Holtz, Peter, und **Heise, Rudolf,** unter Mitarbeit von **Käthe Lüdtke.** Fermentativer Abbau von l-Dioxyphenylalanin (Dopa) durch Niere. Mit 10 Textabbildungen 87

Hundhausen, Gerhart und **Schulze, Ernst,** Über die Beziehungen zwischen Schilddrüse und Hypophysenvorderlappen bei B_1-Avitaminose. Mit 10 Textabbildungen 570

Jacobi, L., Beiträge zur Pathologie der Infektion des Huhnes mit Plasmodium gallinaceum (Brumpt). Mit 2 Textabbildungen 482

Jarisch, A., und **Henze, C.,** Lebervolumen und Mistelwirkung. Mit 4 Textabbildungen 30

Jeney, A. v., Ari, L. und **Baranyai, P.,** Die Wirkung des Quercitrins auf die durch Dinitrophenol verursachte Hyperthermie. Mit 11 Textabbildungen 407

Jeney, A. v., und **Vályi-Nagy, T.,** Die antagonistische Wirkung des Quercitrins und 1 : 2 : 4 α-Dinitrophenols auf den Atmungsstoffwechsel der Ratten 423

Klimmer, Otto s. Wilhelm Neumann.

Koll, Werner und **Nocken, Hans,** Untersuchungen über die Abhängigkeit der Wirkung oestruserzeugender Substanzen vom zeitlichen Verlauf ihrer Zufuhr. Versuche mit Oestron und Oestradiol an der kastrierten weiblichen Ratte 340

Krauskopf, Br. s. H. Bergstermann.

Kreuder, Elfriede, Über die Wirkung von Morphin, Pernocton, Evipan und Eunarcon auf den respiratorischen Gaswechsel des Kaninchens. Mit 6 Textabbildungen 670

Lánczos, Anna, Stoffwechselwirkung des thyreotropen Hormons am Kaltblüter. Mit 4 Textabbildungen 430

Loeser, Arnold s. Otto-Heinrich Arnold.

Seite

Loeser, Arnold und **Trikojus, V. M.**, Zur Pharmakologie des Thyroxamins. Mit 1 Textabbildung 563

Lüdtke, Käthe s. Peter Holtz.

Macovski, Eufrosine s. Eugen Macovski.

Macovski, Eugen und **Macovski, Eufrosine**, Untersuchungen über die Permeabilität lebender Membranen. VII. Wirkung der Adsorptionserscheinungen auf die Penetration des Cetylchinoleiniumchlorids durch das Kiemenepithelium von „Atherina hepsetus L.". Mit 7 Textabbildungen 628

Martin, J. s. St. Went.

Martini, P., in Gemeinschaft mit **L. Brückner, K. Dominicus, A. Schulte** und **A. Stegemann**, Homöopathische Arzneimittel — Nachprüfungen 141

Matthes, K. und **Gross, F.**, Untersuchungen über die Absorption von rotem und ultrarotem Licht durch kohlenoxydgesättigtes, sauerstoffgesättigtes und reduziertes Blut. Mit 3 Textabbildungen 369

Matthes, K. und **Gross, F.**, Fortlaufende Registrierung der Lichtabsorption des Blutes in zwei verschiedenen Spektralbezirken. Mit 3 Textabbildungen 381

Matthes, K. und **Gross, F.**, Fortlaufende Registrierung von Kohlenoxydhämoglobin im strömenden Blute. Mit 4 Textabbildungen 391

Matthes, K. und **Gross, F.** Zur Methode der fortlaufenden Registrierung der Farbe des menschlichen Blutes. Mit 2 Textabbildungen 523

Matthes, K. und **Gross, F.**, Über den Nachweis von Methämoglobin und Cyanmethämoglobin im strömenden Blut. Mit 3 Textabbildungen 706

Metelmann, Joachim, Über Behandlung der durch Gelbkreuzkampfstoff gesetzten Hautwunden mit Kamille 263

Meythaler, F. und **Gerstenberg, H. W.** Über den Einfluß des Insulins auf die Leber. Mit 11 Textabbildungen 505

Möller, Hubert, Über die Wirkung von Thymol auf die Schilddrüse ... 615

Morgenstern, V. s. W. Eger.

Neumann, Wilhelm und **Klimmer, Otto**, Apparaturen zur Dosierung von Flüssigkeiten und Gasen. Mit 2 Textabbildungen 501

Nocken, Hans s. Werner Koll.

Nöcker, P. A. s. H. Bergstermann.

Oelkers, H.-A., Untersuchungen über den Einfluß von Arsen- und Antimonverbindungen auf den Zuckerstoffwechsel. Mit 1 Textabbildung 661

Ortmann, P., Reduktionswirkungen des Lichtes an der Haut der durchströmten Ohrmuschel. Mit 7 Textabbildungen 12

Prigge, R. und **Schäfer, W.**, Methoden der Wertbemessung biologisch wirksamer Substanzen. Mit 7 Textabbildungen 281

Reindell, H. s. Hellmut Bauer.

Rentz, Ed., Über den Einfluß der Vagusreizung auf die Bewegungen des Dickdarms. Mit 12 Textabbildungen 172

Rentz, Ed., Unwirksamkeit von Acetylcholin und Histamin auf den Darm vom Darmlumen aus. Mit 8 Textabbildungen 183

Richter, Hans, und **Schröcksnadel, Hans**, Die pulsverlangsamende Wirkung der Mistel. Mit 3 Textabbildungen 23

Seite

Richter, Hans, Über das Verhalten des Lebervolumens bei den Kreislaufreflexen. Mit 3 Textabbildungen 40

Riedel, Herbert, Studien über Methämoglobinbildung. XII. Mitteilung: Harn 609

Risi, Antonio, Die antidotarische Behandlung der akuten Bariumvergiftung. Mit 5 Textabbildungen 602

Rodewald, W. s. K. Hinsberg.

Rühl, A. und **Thaddea, S.,** Die Wirkung von Coffein auf den Milchsäurestoffwechsel von Herz und Lunge. Mit 3 Textabbildungen 438

Rühl, A. und **Thaddea, S.,** Anoxie und Milchsäurestoffwechsel von Herz und Lunge. Mit 2 Textabbildungen 452

Schäfer, W. s. R. Prigge.

Schneider, Erich s. Chr. Bomskov.

Schröcksnadel, Hans s. Hans, Richter.

Schulte, A. s. P. Martini.

Schulze, Ernst s. Gerhard Hundhausen.

Schumm, O. Über den Porphyringehalt des Blutes unter besonderer Berücksichtigung der Einwirkung von Hämatoporphyrin. (Nach gemeinsam mit G. Knop durchgeführten Untersuchungen). Mit 26 Textabbildungen auf 3 Tafeln 529

Stegemann, A. s. P. Martini.

Steinmann, B., Über die Bestimmung der zirkulierenden Blutmenge beim Menschen. Mit 6 Textabbildungen 237

Stückradt, Harry, Zur Pharmakologie des 3,6-Diaminocholestan 362

Sturm, A. und **Voges, H.,** Die stufentonosphygmographische Analyse der Kreislaufwirkung des Veritols. Mit 5 Textabbildungen 331

Thaddea, S. s. A. Rühl.

Trikojus, V. M. s. Arnold Loeser.

Vályi-Nagy, T. s. A. v. Jeney.

Visscher, Maurice B., Der mechanische Wirkungsgrad des versagenden Herzens 266

Voges, H. s. A. Sturm.

Wense, Theodor, Der Peroxydgehalt des Acetaldehydes und die Inaktivierung des Adrenalins. Mit 2 Textabbildungen 358

Went, St. und **Martin, J.,** Über die Shokresistenz der weißen Ratte. Mit 7 Textabbildungen 545

Werle, E. und **Hoff, E.,** Über die Blutdruckwirkung von arteigenen Hypophysenhinterlappenextrakten bei Hühnern. Mit 2 Textabbildungen 492

Aus der Chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.
(Leiter: Prof. Dr. Hinsberg.)

Über die Wirkung von Porphyrin auf die Hypophyse, besonders auf die Melanophorenhormonausschüttung.

Von

K. Hinsberg und W. Rodewald.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. August 1938.)

Im Rahmen von Versuchen über die physiologische Bedeutung der Porphyrine im Organismus sind wir auf mehrere Literaturangaben gestoßen, die uns veranlaßten, die Wirkung von Porphyrin auf die Hypophyse, insbesondere die Melanophorenhormonausschüttung zu studieren. Bei Carcinom ist in vielen Fällen eine vermehrte Ausscheidung von Porphyrin beschrieben worden, die sich allerdings hauptsächlich auf Hautcarcinome bezog und mit der photosensibilisierenden Wirkung der Porphyrine in Zusammenhang gebracht wurde[1]. Damit zusammenhängend interessieren auch Angaben, nach welchen Porphyrin den glykolytischen Stoffwechsel von Organen zu steigern in der Lage ist[2], was die Frage nahelegte, ob Porphyrin zu den typischen Stoffwechselveränderungen beim Carcinom in Beziehung stände. Bei der sensibilisierenden Wirkung der Porphyrine, auf die schon oben hingewiesen wurde, handelt es sich um die Übertragung allgemeiner Lichtwirkungen, während für das Melanophorenhormon (M.H.) eine spezielle Beeinflussung durch die durch das Auge aufgenommenen Lichtreize angenommen wird, die sowohl die Ausschüttung wie die Bildung dieses Hormons regulieren. Daß aber neben dieser rein nervösen Regulation noch eine weitere Beeinflussung des M.H. durch die Porphyrine vorliegt, geht daraus hervor, daß bei dunkelgehaltenen Tieren, bei denen in der Hypophyse die inaktive Form des M.H. gespeichert wird, durch Porphyrin eine Umwandlung in die aktive Form sogar bei Dunkelheit erzielt werden kann, die sonst nur durch Belichtung ausgelöst wird. Dieses kann nur durch eine direkte Wirkung des Porphyrins verursacht sein[3]. Andererseits ist von Rodewald gezeigt worden[4], daß es bei Carcinom im Serum regelmäßig zum Auftreten von Stoffen kommt, die zugegebenes M.H. inaktivieren, und in noch nicht veröffentlichten Versuchen konnte dieselbe Autorin feststellen, daß bei carcinomatösen Menschen und bei Tieren mit Spontantumoren der Gehalt der Hypophyse an aktivem M.H. stark ab-

[1] Vanotti: Porphyrine und Porphyrinkrankheiten, S. 92. Berlin 1937. — [2] Wohlgemuth u. Szörényi: Biochem. Z. **264**, 271 (1933). — [3] Rodewald: Z. f. vergl. Physiol. **21**, 767—800 (1934). — [4] Rodewald: Dtsch. med. Wschr. **1937**. S. 1271.

sinkt. Diese Tatsachen ließen einen direkten Zusammenhang zwischen Porphyrin und M. H. erwarten. Insbesondere wollten wir prüfen, wie sich das M. H. verschiedener Tiere nach Injektion von Porphyrin verhält, und ob durch mehrmalige Injektion von Porphyrin typische Veränderungen im Organismus erzielt werden können. Wir werden im nachfolgenden zeigen, daß sowohl bei einmaliger Injektion als auch nach mehrwöchiger Porphyrinbehandlung ein wesentlicher Einfluß auf das M.H. gefunden wird.

I. Einmalige Injektion von Porphyrin beim Frosch.

Bei normalen, hell angepaßten, bei Tageslicht gehaltenen Temporarien läßt sich die Beeinflussung der Melanophorenhormonsekretion durch Porphyrin direkt an der Expansion des Melanins und der damit verbundenen Farbveränderung der Tiere ablesen. Daß es sich dabei nicht um eine direkte Wirkung des Porphyrins auf die Chromatophoren handelt, geht aus folgenden Versuchen hervor.

1. Hautstückchen aus der Rückenhaut von hellen Temporarien wurden in Hämatoporphyrinlösungen von verschiedener Konzentration zwischen 0,001 und 2 mg im ccm gelegt, die zum Teil schon beim intakten Frosch eine Verfärbung hervorzurufen vermögen. Innerhalb 4 Stunden konnte keine Expansion des Melanins beobachtet werden. Nachfolgende Kontrollversuche mit Hypophysinlösungen an denselben Hautstückchen zeigten, daß keine Schädigung vorlag, die die Melaninexpansion verhindern könnte.

2. 6 dunklen Fröschen wurde in Äthernarkose die Hypophyse herausgenommen. 5 von diesen Tieren hellten nach der Operation gut auf, ein Zeichen, daß die Hypophyse total exstirpiert war. Diesen hellen Fröschen wurden nach 3 Tagen Hämatoporphyrinlösungen injiziert, und zwar 3 Tieren je 0,8 mg, 2 Tieren je 2 mg. Die Tiere blieben zunächst unverändert. Nach 3—4 Stunden waren sie extrem aufgehellt. Dem 6. nach der Operation nicht ganz aufgehellten Tier wurde 0,8 mg Hämatoporphyrin injiziert, bei diesem Tier trat nach 1 Stunde eine deutliche Verdunkelung ein.

Das Hämatoporphyrin bewirkt also eine Ausschüttung des Melanophorenhormons aus der Hypophyse beim Frosch.

Derselbe Effekt konnte mit Protoporphyrin erzielt werden. Die Wirkung auf die Melanophorenhormonsekretion ist aber viel heftiger als bei den gleichen Dosen Hämatoporphyrin (siehe Tabelle 1)*.

Während nach Hämatoporphyrininjektion immer nach spätestens 7 Stunden der Verdunkelungseffekt vorbei ist und die Tiere dann extrem aufhellen, hält nach der gleichen Menge Protoporphyrin noch nach 56 Stunden die starke Verdunkelung (Stufe 6) an. Allerdings sprechen nicht alle Tiere auf die Protoporphyrininjektion mit einer Verdunkelung an, und bei den verdunkelten Tieren tritt bei Mengen über 0,1 mg Proto-

* Über die Beurteilung der Verdunkelungsstufen s. Lit. 4.

Tabelle 1.

	mg pro Tier	Verdunkelungsstufe nach Stunden							
		1	3	4	7	24	48	56	68
Hämatoporphyrin .	2	2	3	2	—				
Protoporphyrin ...		—	2	3	3	6	6		
Hämotop.	0,8	2	2,5	2	—				
Protop.		1	2	3	3	6	6	6	
Hämatop.	0,2	—	1	—					
Protop.		—	2	2	3	6	6	6	4
Hämatop.	0,1	—	—	—					
Protop.		—	1	1	2	2,5	5	6	6
Hämatop.	0,01	—	—	—					
Protop.		—	(1)	2	2	2,5	2,5	6	6
Hämatop.	0,001	—	—	—	—				
Protop.		—	—	—	1	1	1—2	5—6	6
Protop.	0,0001	—	—	1	2,5	2,5	2,5	6	6

porphyrin keine Aufhellung auf. Eine extreme Verdunkelung konnten wir bei manchen Tieren noch mit $^1/_{10}\,\gamma$ Protoporphyrin erzielen.

Bei 0,1 γ und weniger tritt vor der endgültigen Verdunkelung eine starke Aufhellung der Tiere ein, auch wenn das Protoporphyrin in vor dem Versuch verdunkelte Tiere injiziert wurde. Es wird im allgemeinen angenommen, daß beim Frosch das Adrenalin als Antagonist des M.H. auf die Chromatophoren aufzufassen ist. Demnach würde in unseren Versuchen durch Porphyrin neben der Wirkung auf die Hypophyse ein direkter Anreiz zur Sekretion von Adrenalin ausgelöst. Die Aufhellung wurde auch bei den hypophysektomierten Tieren beobachtet. Es muß sich also dabei um eine Wirkung handeln, die nicht von der Hypophyse abhängig ist. Vielleicht wird durch die antagonistische Adrenalinsekretion die M.H.-Ausschüttung aus der Hypophyse eingedämmt.

Bei den Tieren, die sich nach 0,8 mg Protoporphyrin verfärben, läßt sich gleichzeitig eine stark toxische Wirkung beobachten, die wahrscheinlich nicht auf das Porphyrin selber, sondern auf das Melanophorenhormon und durch dieses Hormon ausgelöste Vorgänge zurückgeführt werden muß. Tiere, die auf Porphyrin nicht mit Verdunkelung reagieren, zeigen keine toxischen Erscheinungen. Die Tiere überlebten durchschnittlich 48 Stunden, 2 von 15 Tieren 56 Stunden.

Die toxischen Erscheinungen charakterisieren sich im einzelnen wie folgt: Nach 19 Stunden, bei Farbstufe 2 tritt nach Berührung bei den Tieren eine Starre ein, bei der die Arme fest angepreßt, die Beine und der übrige Körper starr gestreckt sind. Der Anfall dauert ungefähr 10 Minuten und läßt sich wiederholt durch Berührung auslösen. Nach 48 Stunden sind die Tiere sehr dunkel (Stufe 6), zeigen eine schlaffe Haltung, der Rücken ist durchgebogen, sie können sich nicht aufrichten oder umdrehen, wenn sie auf den Rücken gelegt werden. Die krampfartige Starre läßt sich dann nur in wenigen Fällen noch ganz schwach auslösen. Zwischen

48 und 56 Stunden nach der Injektion starben die Tiere unter heftigen krampfartigen Erscheinungen.

Bei diesen Versuchen ist an die enorme M.H.-Vermehrung im Blut und an die gleichzeitig auftretenden Krämpfe bei der Eklampsie zu denken[5]. Die Frage, ob auch bei Säugetieren eine Überdosierung von M.H. Ursache derartiger Erscheinungen sein kann, muß z. Zt. noch offen bleiben. Durch M.H. sind bis jetzt nur bei Kaltblütern Krämpfe ausgelöst worden.

Bei den mit Protoporphyrin injizierten Tieren wurden die Hypophysen herausgenommen und auf ihren Gehalt an Melanophorenhormon untersucht. Die Hypophysen normaler Tiere enthalten immer soviel Hormon, daß sich mit 0,2 ccm eines in 1 ccm Ringerlösung bereiteten Hypophysenextraktes bei allen injizierten Fröschen die stärkste Verdunkelungsstufe (6) auslösen läßt. Temporarien, die auf die Porphyrininjektion nicht ansprechen, enthalten in der Hypophyse ebensoviel Melanophorenhormon wie die Normaltiere. Bei den verdunkelten Protoporphyrintieren ergaben die Hypophysenextrakte folgende Hormonwerte (Tabelle 2).

Tabelle 2. Gehalt der Hypophyse an M.H. nach 0,8 mg Protoporphyrin

Bei Verdunklungsstufe	Bei Extraktion mit Ringer	NaOH	
2,5	2,5	0,5	
2,5	1	0,5	
3,0	1	0,0	
6,0	0	0	Tiere haben starke Krämpfe
6,0	0	0	

Bei den Tieren ist also fast alles in der Hypophyse enthaltene M.H. ausgeschüttet worden. Bei den in einer enormen Verdunkelung gestorbenen Tieren ist die Hypophyse in bezug auf das M.H. vollständig erschöpft. Es läßt sich aus diesen Hypophysen auch mit NaOH kein Hormon extrahieren. Wahrscheinlich ist also, wie schon von den dunkelgehaltenen Temporarien berichtet wurde, auch das immer vorhandene inaktive Hormon in aktives umgewandelt und ausgeschüttet worden.

II. Einmalige Porphyrininjektion bei der Ratte.

Bei der Ratte wurde die Wirkung einer einmaligen Injektion von Porphyrinen am M.H.-Gehalt der Hypophyse und des Blutes untersucht. 3 männlichen Ratten wurden je 4 mg Hämatoporphyrin intramuskulär und 4 anderen je 4 mg Protoporphyrin injiziert. Die Tiere wurden am nächsten Tag genau 24 Stunden nach der Injektion getötet und die Hypophysen mit Ringerlösung extrahiert. Bei den mit Hämatoporphyrin injizierten Tieren ließen sich keine wesentlichen Veränderungen gegenüber dem M.H.-Gehalt von normalen weißen Ratten feststellen. Bei den mit

[5] Cushing: Amer. J. Path. **1934**, 145.

Protoporphyrin behandelten Tieren war in allen Fällen eine leichte Erniedrigung selbst durch einmalige Injektion nachweisbar.

Die inaktive Form des M.H., das mit NaOH aktiviert und so am Frosch nachgewiesen werden kann, läßt sich immer aus den Hypophysen normaler Ratten extrahieren. Bei den mit Protoporphyrin injizierten Tieren waren nur Spuren dieser inaktiven Substanz nachweisbar. Die inaktive Form wird offenbar auch bei Ratten nach Protoporphyrin in die aktive Phase umgebaut.

5 ccm Vollblut von jedem dieser Tiere wurden mit Aceton gefällt, der Rückstand mit n/10 NaOH gekocht, das Filtrat eingedampft und mit heißem Alkohol extrahiert, der Rückstand in 1 ccm Ringerlösung aufgenommen und 0,2 ccm = 1 ccm Blut injiziert. Extrakte aus Blut von normalen Tieren lösen keine M.H.-Reaktion aus. Mit dem aus dem Blut der mit Hämatoporphyrin behandelten Tieren gewonnenen Extrakt wurde nur einmal Verdunkelungsstufe 1 und einmal Stufe 2 ausgelöst. Dagegen hatte sich aus dem Blute der mit Protoporphyrin behandelten Tiere soviel M.H. extrahieren lassen, daß jedesmal mit 0,2 ccm der Extrakte Verdunkelungsstufe 2 hervorgerufen wurde. Bei der Ratte hat Hämato- und Protoporphyrin also ebenfalls eine Ausschüttung des M.H. zur Folge, die so beträchtlich sein kann, daß sich aus 1 ccm Blut dieser Tiere genügend Hormon extrahieren läßt, um damit eine deutliche Verdunkelungsreaktion beim Frosch auslösen zu können.

III. Einmalige Protoporphyrininjektion beim Kaninchen.

Da angenommen wurde, daß die M.H.-ausschwemmende Wirkung der Porphyrine bei den Säugetieren immer nachweisbar sein wird, wurde untersucht, ob beim Kaninchen nach Protoporphyrininjektion M.H. im Harn auftritt. Nach Jores[6] kann man M.H. aus dem Harn durch Sättigen mit $(NH_4)_2SO_4$ ausfällen. Der Niederschlag wird alsdann in üblicher Weise aufgearbeitet. Die Versuchstiere wurden je 2 in einem Stall gehalten, der Urin gesammelt und von der Tagesportion je 200 ccm untersucht. Trotz der starken intermediären M.H.-Wirkung des Protoporphyrins, die wir bei Ratten beschrieben haben, kommt es so gut wie zu keiner Ausscheidung im Harn (Tabelle 3). Dies steht in Übereinstimmung mit den Versuchen von Jores, der nach M.H.-Injektion beim Menschen nur in der ersten halben Stunde Spuren im Harn nachweisen konnte.

Im vorhergehenden ist gezeigt, daß durch einmalige Porphyrininjektion eine M.H.-Ausschüttung aus der Hypophyse erfolgt. Aus früheren Versuchen ist bekannt, daß chronische Zufuhr von M.H. eine Verarmung der Hypophyse an M.H. verursacht und gleichzeitig im Blute dieser Tiere ein Stoff auftritt, der zugegebenes M.H. in vitro inaktivieren kann. Dieser Stoff, der seiner chemischen Natur nach noch vollkommen unbekannt ist,

[6] Jores: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **173**, 31 (1933); Klin. Wschr. **1936**, S. 1433.

Tabelle 3. Ammonsulfatniederschlag aus Harn.

	Extraktion mit Ringer	n/10 NaOH
Vorperiode 5 Tage	—	—
4 mg Protoporphyrin injiziert		
1. Tag	(+)	—
2. Tag	((+))	—
4 mg Protoporphyrin		
3. Tag	(+)	(+)
4. Tag	((+))	((+))
4 mg Protoporphyrin		
5. Tag	(+)	(+)
6. Tag	(+)	—
7. Tag	—	—
8. Tag	—	—

kommt bei Menschen hauptsächlich im Carcinomblut vor. Seiner charakteristischen Eigenschaft wegen, zugesetztes M.H. zu binden, ist er „bindender Stoff" (B.S.) genannt worden. Die Bindung des M.H. läßt sich auf zweierlei Art nachweisen.

1. Indem im Serum-Hypophysingemisch das überschüssige M.H. direkt bestimmt wird (B.S. I).

2. Indem das Serum Hypophysingemisch nach 1 Stunde mit Aceton gefällt und das im Filtrat enthaltene M.H. bestimmt wird (B.S. II). Die Ergebnisse der beiden Methoden sind nicht immer gleich, aber wir können zur Zeit noch nicht entscheiden, ob es sich um zwei verschiedene Komponenten handelt.

Es soll im folgenden untersucht werden, ob durch den dauernden Anreiz zur M.H.-Ausschüttung aus der Hypophyse durch wiederholte Porphyrininjektion ähnliche Erscheinungen, wie sie eben beschrieben sind, auftreten.

IV. Wiederholte Injektion von Porphyrin.

A. Bei Ratten.

Erwachsenen weißen Ratten (Körner und Fleischfutter) wird jeden 2. Tag 2 mg Hämatoporphyrin (Nordmark) intramuskulär injiziert. Nach einer bestimmten Zahl von Injektionen werden die Tiere am folgenden Tag getötet und Blut und Hypophyse auf M.H. und B.S. untersucht.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Abb. 1 aufgezeigt. Für jeden angegebenen Wert wurden 3—4 Tiere untersucht, die Hormon- und B.S.-Mengen stimmten in jeder Gruppe weitgehend überein. Auf der Horizontalen sind die verabreichten Porphyrinmengen eingetragen, auf der Senkrechten nach oben die Melanophorenhormonmenge der Hypophyse, ausgedrückt in Verdunkelungsstufen am Frosch, welche einer bestimmten immer gleichbleibenden Extraktmenge entsprechen. Nach unten sind in Verdunkelungsstufen die Hormonmengen angegeben, die durch das B.S. aus 1 ccm Serum inaktiviert werden können, so daß z. B. nach 10 mg Porphyrin soviel B.S. I in 1 ccm Serum vorhanden ist, um die zu Versuchsbeginn in der Hypophyse vorhandene M.H.-Menge zu inaktivieren.

Die nach unten gerichteten schwarzen Stäbe entsprechen dem im Serum direkt nachweisbaren B.S. I. Die nach unten gerichteten schraffierten Stäbe bedeuten die Menge B.S. II.

Die Versuche zeigen mit zunehmenden Porphyrinmengen ein Absinken des M.H. der Hypophyse bis auf etwa ein Drittel des ursprünglichen Wertes und ein gleichzeitiges maximales Ansteigen der B.S. Es fällt ein Antagonismus zwischen dem M.H. der Hypophyse und B.S. I im Serum auf; die M.H. Veränderung in der Hypophyse geht voran. Weiter erreicht der B.S. II erst verhältnismäßig spät den Wert von B.S. I.

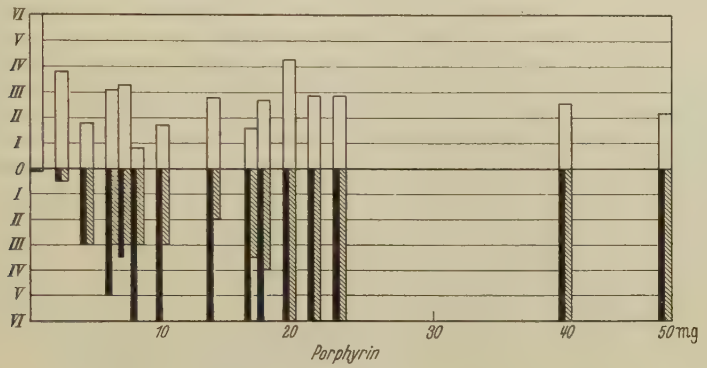


Abb. 1.

Versuche mit Protoporphyrin.

Erwachsene, weibliche Ratten, Durchschnittsgewicht zu Anfang des Versuchs 170 g, zu Ende des Versuchs 210 g.

Das Protoporphyrin, z. B. 200 mg, wird in 5 ccm Na_3PO_4, 5%, gelöst, mit 1% HCl neutralisiert und durch Tüpfeln auf p_H 7,5 eingestellt (etwa 2,6 ccm HCl), weiter auf 25 ccm mit H_2O aufgefüllt und sterilisiert. Von dieser Lösung (1 ccm = 8 mg) werden je 0,2 ccm (1,6 mg) den Ratten intramuskulär injiziert. Nach einer gewissen Zeit werden die Tiere getötet, Blut und Hypophysen wie üblich untersucht. (Bei 17 mg Abfall im Hormongehalt der Hypophyse und Ansteigen von B.S., nach 26 mg bei 5 Tieren wieder normale Werte, bei 2 Tieren noch erhöhter B.S. — und erniedrigter Hormonspiegel.)

Aus den Versuchen können wir sagen, daß kein so regelmäßiger Abfall des M.H. in der Hypophyse stattfindet wie nach Hämatoporphyrin und daß außerdem kein inaktives M.H. gebildet wird. Dies ist ein wesentlicher Unterschied, der entweder darauf beruht, daß es in Gegenwart von Protoporphyrin nicht zur Bildung von inaktivem Hormon kommt oder aber die inaktive Stufe sofort in aktives Hormon umgewandelt wird. Wenn man nämlich Ratten, bei denen nach fortdauernder M.H.-Injektion nur wenig aktives und viel inaktives Hormon in der Hypophyse vorhanden ist, einmal Protoporphyrin injiziert, so findet man in Hypophyse und Blut große Mengen aktives Hormon, während inaktives Hormon durch Behandlung mit NaOH nicht mehr nachweisbar ist.

Bei alten männlichen Ratten (Gewicht 210—235 g) steigt nach Protoporphyrin der B.S.-Gehalt des Blutes schneller an als bei weiblichen Tieren. Bereits nach 17 mg Protoporphyrin ist schon ein deutlicher Anstieg des B.S.-Gehalts des Blutes nachweisbar, der sich bis zu 50 mg Porphyrin weiter vermehrt. Das M.H. der Hypophyse erreicht nach einem kurzen Absinken wieder normale Werte.

B. Bei Kaninchen.

Zum Versuch kamen 4 albinotische und 4 pigmentierte Kaninchen. Durchschnittsgewicht 1500 g, die bei Hafer- und Heuernährung gehalten wurden. Die Tiere bekommen jeden zweiten Tag 4 mg Hämatoporphyrin (Photodyn) intramuskulär; sie nehmen im Verlauf des Versuchs an Gewicht

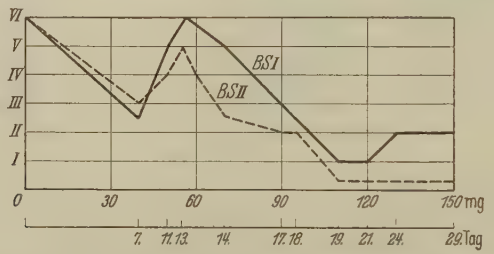


Abb. 2. Die Kurven geben die durch B. S. nicht inaktivierten Hormonmengen an (Zugegeb. Hormon entspricht Stufe 6).

ab. Die saure Injektionslösung verursachte an der Injektionsstelle Verhärtungen und Nekrosen. Im Verlauf des Versuchs wurde den Tieren aus dem Ohr Blut zur Untersuchung entnommen. Normal zeigte sich keine bis sehr wenig B.S. Als Beispiel stellen wir den Verlauf der Blutuntersuchung eines Tieres dar. Die Versuche verliefen vollkommen gleichmäßig und vor allen Dingen war bei allen Tieren nach 50—55 mg Hämatoporphyrin ein plötzliches Absinken des B.S. zu beobachten, der dann wieder gleichmäßig anstieg. Nach 110 mg und mehr Hämatoporphyrin sind die Ergebnisse unregelmäßig.

In Serum und Blutkuchen sind ungefähr dieselben Mengen B.S. vorhanden.

Wurden während des Versuchs die Tiere zu einem Zeitpunkt getötet, in welchem sich viel B.S. im Serum nachweisen ließ (nach insgesamt 124—152 mg Hämatoporphyrin in 21 Tagen), so konnte der B.S. auch in Leber und Milz, nicht im Muskel festgestellt werden. Zur Extraktion wurden die Organe des ausgebluteten und mit Ringer durchspülten Tieres zerkleinert, mit Aceton (fünffache Menge) gefällt, der Rückstand mit 50 %igem Aceton längere Zeit geschüttelt, das Filtrat im Vakuum bei etwa 30° verdampft, der Rückstand in Ringer aufgenommen und direkt zum Versuch verwendet.

In den Hypophysen dieser Tiere fand sich nur eine geringe Menge M.H. und aus dem Harn konnte in 3 von 4 Fällen M.H. gewonnen werden. Desgleichen ließen sich aus Blut und Leber mit NaOH geringe Mengen aktiviertes M.H. isolieren.

Meerschweinchen (10 Tiere) vertragen Hämatoporphyrininjektionen sehr schlecht, sie nehmen stark an Gewicht ab, ein Teil geht sogar ein. Die Wirkung des Porphyrins auf B.S. I- und II-Bildung im Blute ist bis 22 mg pro Tier (300 g) nicht nachzuweisen.

Erst bei 30 mg pro Tier ist B.S. vorhanden, und zwar mehr II als I. Auch die Hypophysen zeigen bis zu 19 mg Porphyrininjektion keine Veränderung im M.H.-Gehalt, von 22 mg an eine starke Abnahme.

C. Bei Hunden.

Der Hund (26 kg) erhielt in 28 Tagen 480 mg Hämatoporphyrin intramuskulär, während dieser Zeit wurde in unregelmäßigen Abständen Blut aus der Beinvene entnommen und auf B.S. I und II untersucht. Der

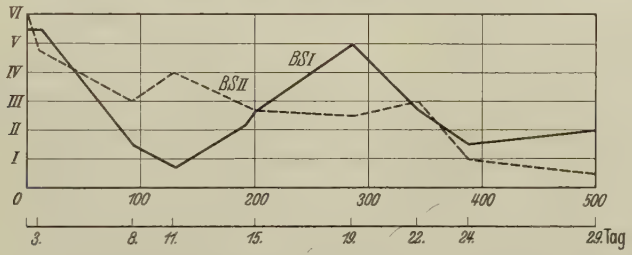


Abb. 3. Kurven bezeichnen die nicht inaktivierten Hormonmengen.

Verlauf der Kurve ist analog den Kaninchen- und Rattenversuchen (siehe Abb. 3) infolge der geänderten Mengenverhältnisse zeitlich etwas verschieden. Bei dem entbluteten und mit Ringer durchspülten Tier fand sich in der Leber und Milz namhafte Mengen von B.S., nichts im Muskel. Auch in bezug auf den M.H.-Gehalt in Blut und Harn ergaben sich dieselben Verhältnisse wie beim Kaninchen.

Zwischen Pflanzen- und Fleischfressern ergab sich kein Unterschied in bezug auf M.H.- und B.S.-Verschiebung, doch wurde weder bei Ratten noch beim Hund eine Gewichtsabnahme gefunden, im Gegensatz zu starken Gewichtsabnahmen bei Meerschweinchen und Kaninchen.

Nach diesen Versuchen interessierte uns natürlich auch die Wirkung von Porphyrin, welches durch U.V.-Bestrahlung verändert war. Wir haben die Hämatoporphyrinlösungen in Quarzröhrchen verschieden lange und bei verschiedener Reaktion mit der Höhensonne bestrahlt und dann den Fröschen nach Neutralisation injiziert, und im Verlauf von mehreren Stunden die Wirkung auf die Melanophoren beobachtet.

Nur die Bestrahlung saurer Lösungen hat einen Effekt, in der Weise, daß an sich unterschwellige Dosen (0,01 mg) nach der Bestrahlung zu einer deutlich sichtbaren Verdunkelung führen. Bei den Versuchen, bei denen die

Tabelle 4. Verdunkelungseffekt beim Frosch.

Zeit der Bestrahlung	Reaktion der Lösung	Stunden nach der Injektion 1	2	3	4	7
a) nach 0,2 mg Hämatoporphyrin.						
—	neutral	—	—	—	—	—
4 Std.	„	—	—	—	—	—
—	alkalisch	—	—	—	—	—
4 Std.	„	—	—	—	—	
—	sauer	—	1	—		
4 Std.	„	—	1	1	—	
30 Min.	„	—	1	1	—	
60 „	„	—	1	1	—	
200 „	„	—	1	1	—	
245 „	„	—	1,5	2	—	
265 „	„	—	2,5	2	1	—
295 „	„	—	—	—	—	—
b) 0,01 mg Hämatoporphyrin.						
—	sauer	—	—	—	—	—
4 Std.	„	—	0,5	0,5	—	—

Tiere nach der Porphyrininjektion auf ihre Reaktionsfähigkeit mit Ringer-Hypophysin geprüft wurden, zeigte sich, daß durch die Injektion von Hämatoporphyrin die Empfindlichkeit der Tiere bis zu 3 Stunden herabgesetzt ist. Wir sind geneigt, dies mit dem Adrenalin-Antagonismus zu erklären, auf den wir schon weiter oben hingewiesen haben.

Die M.H.-Menge wurde am intakten hell angepaßten Frosch ausgetestet. Die einzelne Bestimmung hat dabei eine Fehlerbreite von 10 %, doch stützen sich unsere Versuche immer auf Reihenuntersuchungen, die unter sich sehr gut übereinstimmten und immer reproduzierbar waren. Jedenfalls liegen die von uns gefundenen Veränderungen weit außerhalb dieses methodischen Fehlers. In dieser Arbeit ist sehr oft die Rede von dem M.H.-bindenden Stoff (B.S.), welcher als solcher unbekannt ist und nur durch seine Wirkung auf das M.H. nachgewiesen werden kann. Obschon sich die Natur des Stoffes nicht näher umreißen läßt, sind wir von seiner wirklichen Existenz und seinem spezifischen Auftreten beim Ca überzeugt, weil er sich in hunderten von Versuchen regelmäßig hat nachweisen lassen. Der B.S. ist ständig im Ca-Serum zu finden und dabei ist gleichzeitig eine Abnahme des M.H. in der Hypophyse zu beobachten, verbunden mit einer relativen und absoluten Vermehrung seiner inaktiven Form. Im vorstehenden haben wir gezeigt, daß das Hämatoporphyrin in bezug auf B.S.-Bildung und M.H.-Verschiebung in der Hypophyse die gleichen Veränderungen setzt, die beim Ca beobachtet wurden. Diese bis ins einzelne gehenden und charakteristischen Symptome beim Ca einerseits, bei der Hämatoporphyrin-Injektion andererseits sind sehr auffallend und lassen einen Zusammenhang vermuten, dem wir weiter nachgehen werden.

Zusammenfassung.

Es hat sich gezeigt, daß durch Porphyrin bei allen untersuchten Tieren ein deutlicher Effekt in der Hypophyse auszulösen ist. Die Wirkung besteht in einer Ausschüttung von M.H., welches auch im Blute nachweisbar wird.

Bei Vergiftung mit Hämatoporphyrin kommt es zu Erscheinungen, die sonst für Ca charakteristisch sind, während Protoporphyrin nur eine Ausschüttung von M.H. aus der Hypophyse verursacht, ohne daß die M.H.-Neubildung gehemmt ist.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die bereitwillige Unterstützung dieser Versuche, und den Nordmarkwerken in Hamburg für die Überlassung von Versuchsmengen Protoporphyrin.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Greifswald.

Reduktionswirkungen des Lichtes an der Haut der durchströmten Ohrmuschel*.

Von

P. Ortmann.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. Juli 1938.)

P. Wels[1] hat vor kurzem an der abgelösten Schweinehaut nachgewiesen, daß die Reduktion von Tellurit zu metallischem Tellur, welche durch die fixen Sulfhydrilgruppen der Keimschicht ausgelöst wird, durch Belichtung des Hautstückes eine starke Beschleunigung erfährt. Es ist in dieser und in früheren Arbeiten des Instituts[2] ausführlich auseinandergesetzt worden, daß einer solchen reduktionsbeschleunigenden Wirkung des Lichtes eine allgemeinere physiologische Bedeutung zukommen könne. Aus diesem Grunde erschien es lohnend, die Reduktionswirkung erstens unter solchen Bedingungen zu studieren, welche den Verhältnissen der lebenden Haut mehr angenähert sind, und zweitens nach weiteren einfachen Modellen zu suchen, an denen die Wirkung gezeigt werden kann. Ich habe deshalb die Reduktionswirkung am durchströmten Kaninchen- und Schweineohr untersucht und außer dem Tellurit hierzu das Dehydroindigo[3] und das Nitroanthrachinon[4] herangezogen**. Ersteres gibt schwach grüngelb gefärbte Lösungen, in welchen durch die Reduktion das tiefblaue Indigo entsteht, letzteres ist in der Lösung hellgelb und geht bei der Reduktion in das tiefrote Aminoanthrachinon über. Beide Farbumschläge sind sehr augenfällig und haben, wie das Tellurit, den großen Vorteil, daß der ihnen zugrunde liegende Reduktionsvorgang durch anwesenden Sauerstoff nicht rückgängig gemacht wird, wodurch eine summarische Erfassung der reduktionsbeschleunigenden Lichtwirkung ermöglicht wird.

Methodik.

Bei der Durchströmung des Kaninchenohres hielt ich mich im wesentlichen an die Angaben von Krawkow-Pissemski[5]. Über die Durchströmung des Schweine-

* Ausgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Gesellschaft von Freunden und Förderern der Universität Greifswald.

** Herrn Prof. Langenbeck (Chem. Institut Greifswald) danken wir für den Hinweis auf diese Stoffe, der I. G. Farbenindustrie für die Überlassung des im Handel nicht erhältlichen Dehydroindigo.

[1] Wels, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 265 (1938). — [2]) Wels, P.: Strahlentherapie **58**, 1 (1937); Kämmerling, I.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 434 (1937). — [3] Dehydroindigonatriumbisulfit nach Kalb, L.: Ber. d. Dtsch. chem. Ges. Jahrg. 42, **3**, 3642, 3653 (1909). — [4] Nitroanthrachinondisulfosäure nach Bieling: Zbl. f. Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten I. Abt. **90**, Heft 2 (1923). — [5] Pissemski, S. A.: Pflügers Arch. **156**, 426 (1914).

ohres habe ich in der mir zugänglichen Literatur keine Angaben finden können, sie gelang jedoch ebenso leicht wie die des Kaninchenohres, nachdem ich mich in der anfangs etwas schwierigeren Auffindung der zuführenden Arterie geübt hatte. Die Orientierung wurde mir sehr erleichtert durch ein injiziertes und durchsichtig gemachtes Präparat, in welchem alle Gefäße der Schweineohrmuschel gut zu sehen sind. Die etwas schematisierte Abb. 1 zeigt den Gefäßverlauf. Als Durchströmungsflüssigkeit benutzte ich Säugetierringerlösung, welcher ich das Tellurit in einer Konzentration von 1 : 1000, das Dehydroindigo und das Nitroanthrachinon in einer Konzentration von 5 : 1000 zusetzte. Die Durchströmungsflüssigkeit floß aus einer

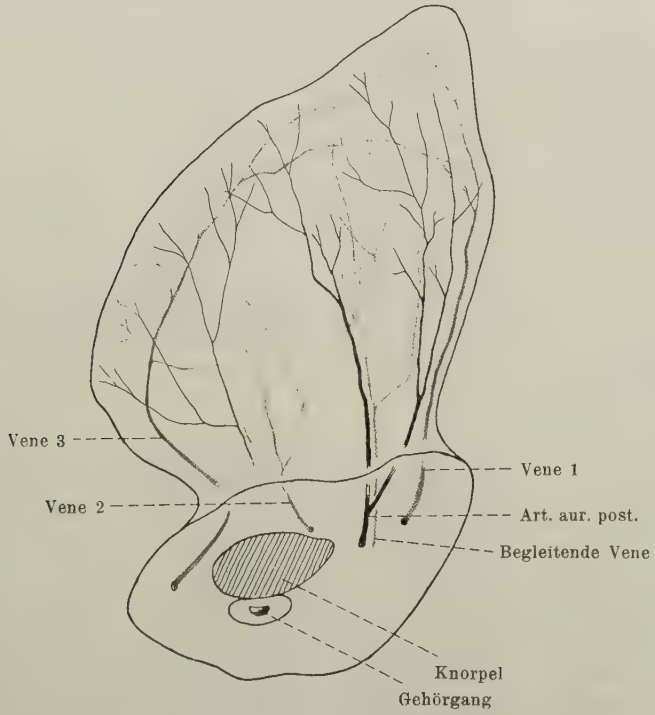


Abb. 1. Gefäße des Schweineohres, schematisiert. Arterien schwarz, Venen grau. Die zuführende Hauptarterie (A. auricularis post.) liegt, von einer kleinen Vene begleitet, im Fettgewebe zwischen den Venen 1 und 2 und ist mit Hilfe dieses Merkmales leicht aufzufinden. Man muß darauf achten, daß das Ohr dicht am Kopfe abgeschnitten wird, damit die Hauptarterie noch vor ihrer Gabelung erfaßt wird.

Mariotteschen Flasche, welche beim Kaninchenohr etwa 40 cm, beim Schweineohr etwa 60 cm über dem Präparat angeordnet war, in die Arterie. Ich benutzte zum Versuch stets beide Ohren des Tieres und durchströmte sie am Anfang mit reiner Ringerlösung. Bei dem einen Ohr wurde dann durch einen Dreiweghahn auf die farbstoffhaltige Ringerlösung umgeschaltet, während durch das andere während des ganzen Versuchs nur Ringerlösung floß. Das erstere Ohr bedeckte ich mit einer Schablone aus Pappe oder Blech und ordnete in etwa 35 cm Abstand darüber eine Quarzlampe an. Die Strahlen trafen die Ohrhaut nur durch die Schablonenöffnung, während die übrige Ohrhaut geschützt blieb. Bei dieser Versuchsanordnung wird erstens die Reduktionswirkung der unbestrahlten Haut erfaßt, indem man die Haut

des nur mit Ringerlösung durchströmten Ohres mit der vor den Strahlen geschützten Haut des mit Ringer-Farbstofflösung durchströmten Ohres vergleicht, und zweitens die reduktionsbeschleunigende Wirkung der Strahlen, indem man die von den Strahlen getroffenen mit den vor den Strahlen geschützten Stellen des mit Ringer-Farbstofflösung durchströmten Ohres vergleicht. Die Bestrahlungszeit betrug 1—2 Stunden. — Werden die zur Durchströmung benutzten Lösungen während einer solchen Zeit in Quarzgläsern unmittelbar mit der Quarzlampe bestrahlt, so zeigt sich beim Tellurit und beim Nitroanthrachinon gegenüber unbestrahlten Kontrollösungen keine Veränderung, das Dehydroindigo allerdings färbt sich schon hierbei leicht blau. Gibt man einen SH-Körper, z. B. Cystein, hinzu, so ist ohne Bestrahlung die Reduktion der benutzten Körper zu den gefärbten Stufen nur schwach. Bestrahlt man, so tritt die beschleunigende Wirkung des Lichtes sehr stark hervor, beim Dehydroindigo und beim Tellurit rascher als beim Nitroanthrachinon.

Versuchsergebnisse.

In allen Versuchen zeigte sich, daß schon die unbestrahlte Haut eine Reduktionswirkung ausübt. Das durchströmte Ohr wurde bei der Telluritlösung grauschwarz, bei der Dehydroindigolösung grünblau oder hellblau, bei der Nitroanthrachinonlösung rosarot.

Wo das Quarzlampenlicht durch die Schablonenöffnung auf das Ohr traf, zeigte sich eine im Verlauf der Bestrahlung ständig zunehmende Vertiefung dieser Färbungen, so daß die Schablonenfigur am Ende des Versuchs in ihrem ganzen Umfange scharf auf dem Ohr abgezeichnet war. Sie hob sich beim Tellurit mit tiefschwarzer Farbe gegen die nur grauschwarz gefärbte unbestrahlte Haut ab, beim Dehydroindigo mit tiefblauer Farbe gegen Hellblau, beim Nitroanthrachinon mit braunroter Farbe gegen Rosarot. Bei den beiden zuletzt genannten Stoffen habe ich Farbaufnahmen gemacht, welche besonders eindrucksvolle Bilder lieferten. Wegen der hohen Reproduktionskosten farbiger Bilder begnüge ich mich hier aber mit der Wiedergabe der gewöhnlichen Schwarzweißaufnahmen, welche das geschilderte Versuchsergebnis, wenn auch nicht so schön, so doch mit ausreichender Deutlichkeit zeigen. Die zum Verständnis erforderlichen Angaben sind in den Unterschriften der Abb. 2 bis 5 enthalten.

Die reduktionsbeschleunigende Wirkung des Lichtes trat beim Tellurit und beim Dehydroindigo wesentlich schneller in Erscheinung als beim Nitroanthrachinon. Dieser Umstand dürfte dadurch zu erklären sein, daß die Übertragung von sechs Wasserstoffatomen notwendig ist, um Nitroanthrachinon in Aminoanthrachinon überzuführen. Eine solche erschwert erfolgende Reduktion ist für den Nachweis der reduktionsbeschleunigenden Wirkung des Lichtes vorteilhaft. Geht die Reduktion allzu leicht vor sich, so ist natürlich der Nachweis einer Beschleunigung schwieriger. Ferricyankalium wird z. B. schon von der unbestrahlten Haut so leicht reduziert, daß beim Nachweis des entstehenden Ferrocyankaliums durch die Berlinerblaureaktion kein Unterschied zwischen bestrahlter und unbestrahlter Haut erkennbar ist.

In allen Versuchen habe ich sowohl von dem nur mit Ringerlösung durchströmten Ohr als auch von den bestrahlten und unbestrahlten Stellen

des mit Ringerfarbstofflösung durchströmten Ohres Gefrierschnitte hergestellt und diese mikroskopisch untersucht und photographiert. Die völlig ungefärbten Schnitte des nur mit Ringerlösung durchströmten Ohres lasse ich hier fort und gebe nur einige Photogramme wieder, welche den Unterschied zwischen den bestrahlten und unbestrahlten Hautstellen des

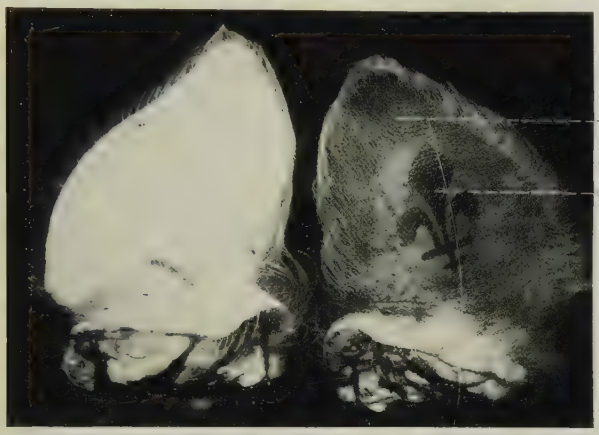


Abb. 2. Schweineohr. Links: mit Ringer durchströmt; rechts: mit Ringer-Tellurit durchströmt. Im Bereich der Schablonenfigur wurde das Ohr vom Quarzlampenlicht getroffen.

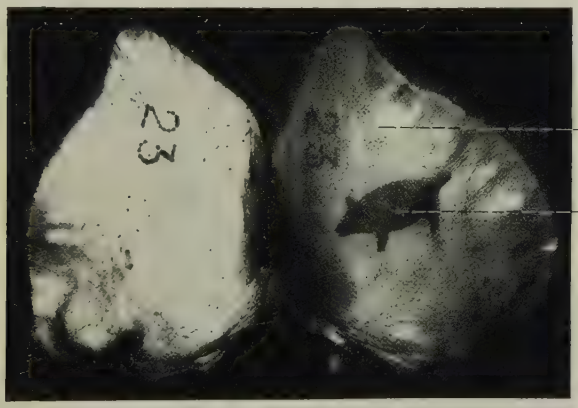


Abb. 3. Schweineohr. Links: mit Ringer durchströmt; rechts: mit Ringer-Dehydroindigo durchströmt. Sonst wie in Abb. 2. (Die Zahl 23 auf beiden Ohren ist ein Schlachthofzeichen und hat mit dem Versuch nichts zu tun.)

mit Ringerfarbstofflösung durchströmten Ohres zeigen. Die besten Bilder liefert das Tellurit, aus welchem sich bei der Reduktion das metallische Tellur auf der sulfhydrilhaltigen Keimschicht niederschlägt, wie es schon von Wels[1] beschrieben wurde (Abb. 6). — Weit schwieriger liegen die Verhältnisse beim Dehydroindigo. Das von uns verwandte Dehydroindigonatriumbisulfit ist zwar im Gegensatz zu reinem Dehydroindigo gut wasserlöslich; die entsprechende Indigoverbindung, welche durch

die Reduktion entsteht, färbt aber das Gewebe nicht an. Infolgedessen lagern sich zwischen den Gewebselementen nur Farbstoffkörnchen ab (Abb. 7). Diese finden sich zwar in erheblicher Menge in der Basalzellenschicht des Stratum germinativum, jedoch oft in noch dichterer Anordnung in den unmittelbar darunterliegenden Partien des Coriums. Dieser letztere

Abb. 4. Schweineohr. Rechts: mit Ringer durchströmt; links: mit Ringer-Nitroanthrachinon durchströmt. Sonst wie in Abb. 2.

Abb. 5. Ohr eines weißen Kaninchens. Rechts: mit Ringer durchströmt; links: mit Ringer-Nitroanthrachinon durchströmt. Sonst wie in Abb. 2.

Umstand ist bemerkenswert, weil er zeigt, daß die reduktionsbeschleunigende Wirkung des Lichtes sich nicht nur — wie es unseren ursprünglichen Gedankengängen entsprach — an den fixen SH-Gruppen der Keimschicht abspielt, sondern auch an anderen Hautelementen, welche die für die SH-Gruppe charakteristischen Nitroprussidnatriumreaktionen nicht oder doch weniger deutlich geben. Diese Verhältnisse bedürfen noch einer genaueren Untersuchung. — Das aus dem Nitroanthrachinon entstehende rote Amino-

anthrachinon färbt das Gewebe nur sehr schwach an und bildet auch keine Körnchen, sondern ist offenbar sehr fein verteilt. Ein Unterschied zwischen bestrahlten und unbestrahlten Hautstellen ist zwar bei genauer mikroskopischer Betrachtung vorhanden, jedoch im Vergleich zu dem sehr deutlichen Unterschied des makroskopischen Bildes so wenig eindrucksvoll, daß ich keine photographischen Aufnahmen versucht habe.

Abb. 6. Schweineohr. Durchströmung mit Ringer-Tellurit. Gefrierschnitte von 50 μ Dicke. Links: unbestrahlte Haut; rechts: bestrahlte Haut.

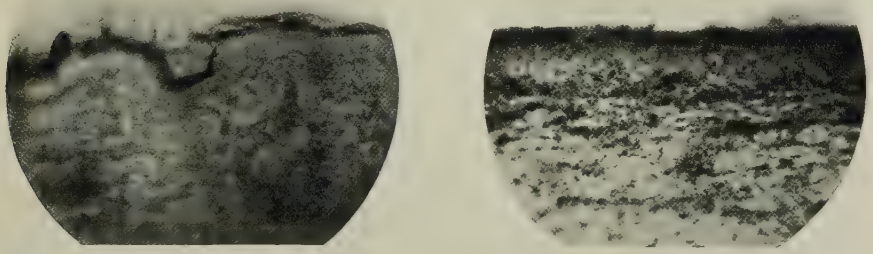


Abb. 7. Schweineohr. Durchströmung mit Ringer-Dehydroindigo. Gefrierschnitte von 50 μ Dicke. Links: unbestrahlte Haut. Feine blaue Körnchen nur in den oberen Partien der Keimschicht. Rechts: bestrahlte Haut. Keimschicht und angrenzende Coriumpartien vollgestopft mit groben blauen Körnchen.

Mißlungene Versuche.

In früherer Zeit ist es nach längerer innerer Darreichung von Silbernitrat in einer Anzahl von Fällen zu dem Zustand der sogenannten Argyrie oder Argyrose[6] gekommen, die durch eine schiefergraue bis blaugraue Verfärbung der Haut, der Schleimhäute und auch innerer Organe gekennzeichnet ist. Insbesondere ist die Haut betroffen, und zwar nach alten Arbeiten von R. Kobert[7] und P. G. Unna[8] an den dem Licht ausgesetzten Stellen stärker als an den bedeckten. Wenn auch der Entstehungsmechanismus dieses Zustandes im einzelnen nicht aufgeklärt ist und in der Literatur sich viele Widersprüche finden, so ist doch bemerkenswert, daß die beiden zuletzt genannten Autoren die Verfärbung auf die Ablagerung metallischen Silbers zurückführen, welches aus Silbereiweiß-

[6] Übersicht bei R. Polland in Jaddassohns Handb. d. Haut- und Geschlechtskrankheiten IV, Teil 3, S. 510. — [7] Kobert, R.: Arch. f. Dermatologie und Syphilis **25**, 773 (1893). — [8] Unna, P. G.: Orths Lehrb. d. spez. Pathol. Anatomie, Erg.-Bd. 2. Teil, S. 1208 (1894).

verbindungen durch einen Reduktionsvorgang entsteht. Nach unseren Telluritversuchen war es naheliegend, die angegebene Bevorzugung belichteter Hautstellen auf die reduktionsbeschleunigende Wirkung des Lichtes zurückzuführen. Um mich über den Einfluß zu unterrichten, den hierbei die SH-Gruppe haben könnte, mischte ich eine 1%ige Höllensteinlösung im Verhältnis 1 : 10 mit Rinder- oder Schweineserum, zentrifugierte den im Laufe von 24 Stunden entstehenden Niederschlag ab und mischte die überstehende Lösung zu gleichen Teilen mit einer 2‰igen Cysteinlösung. Bestrahlte ich diese Lösung mit der Quarzlampe, so zeigte sich nach einer Einwirkungszeit von einer Stunde eine hellbraune bis rotbraune Farbe, welche bei längerer Bestrahlung noch nachdunkelte, während die unbestrahlte Kontrollportion ungefärbt blieb. Der vermutete Zusammenhang liegt also sehr wohl im Bereich der Möglichkeit. Bei der Übertragung dieser Versuche auf die Haut aber zeigte sich sofort, daß die im Cysteinversuch benutzte Silbernitratkonzentration nicht anwendbar war, da die Gefäße des Präparats sehr bald undurchgängig wurden. Setzte ich die Konzentration des Silbernitrats so weit herab (1 : 100000), daß das Präparat durchgängig blieb, und bestrahlte in der angegebenen Weise durch die Schablone, so zeigten die bestrahlten Hautstellen keine Veränderung. Bei diesen Silbernitratkonzentrationen erhielt ich aber auch im Cysteinversuch keine Rotbraunfärbung mehr bei der Bestrahlung. Die in einem langen Zeitraum ganz allmählich entstehende Argyrie ist offenbar in einem kurzfristigen Versuch nicht ohne weiteres nachzuahmen.

Die Arbeiten von Voegtlin[9] über die Entgiftung des Arseniks durch Sulfhydrilverbindungen lassen als möglich erscheinen, daß die fixen SH-Gruppen der Haut eine solche entgiftende Wirkung ausüben und daß diese Wirkung wiederum durch Licht beschleunigt werden kann. Ich mischte zur Orientierung das dem Natriumtellurit analoge Kalium arsenicosum wiederum mit Cystein und fand bei der Belichtung des Gemisches mit der Quarzlampe nach halbstündiger Einwirkungszeit eine leichte Braunfärbung. Der Durchströmungsversuch am Schweineohr ergab aber auch hier ein negatives Resultat.

Zusammenfassung.

Die reduktionsbeschleunigende Wirkung des Lichtes wird in Modellversuchen am durchströmten Kaninchen- und Schweineohr geprüft. Die fixen SH-Gruppen der Haut reduzieren Tellurit zu schwarzem metallischen Tellur, das gelbgrünliche Dehydroindigo zu blauem Indigo, das gelbliche Nitroanthrachinon zu rotem Aminoanthrachinon. Diese Reduktionswirkungen werden durch Belichtung mit der Quarzlampe stark beschleunigt. Die Beschleunigung ist durch die auftretenden Farbunterschiede zwischen bestrahlten und unbestrahlten Hautstellen mit besonderer Deutlichkeit erkennbar.

[9] Voegtlin, C., H. A. Dyer u. C. S. Leonard: J. of Pharmacol. **25**, 297 (1925); M. Rosenthal u. C. Voegtlin: Ebenda **39**, 246 (1930).

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Innsbruck.
(Vorstand: Prof. Dr. Anton Steyrer.)

Über die Wirkung der Mistel auf das Elektrokardiogramm des Froschherzens.

Von

Dr. med. und phil. **Hermann Ebster.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. August 1938.)

Im Schrifttum wird vielfach über eine Wirkung der Mistel auf das Herz berichtet[1]. Sie wurde wegen des Zusammentreffens von Pulsverlangsamung, Tonisierung des Herzmuskels bis zum tonischen Stillstand, ferner von Rhythmusstörungen durch heterotrope Reizbildung und anderen Ähnlichkeiten von Ebster und Jarisch[2] sowie Henze und Ludwig[3] als digitalisartig bezeichnet. Zur Ergänzung der elektrokardiographischen Untersuchungen am Warmblüter von Henze und Ludwig unternahm ich es, am Froschherzen den Einfluß der Mistelvergiftung auf das Eg. zu untersuchen.

Methodisches. Die Versuche wurden in den vergangenen Wintermonaten an großen Eskulenten ausgeführt, die vorher bei Zimmertemperatur gehalten worden waren. Die Frösche wurden mit Urethan narkotisiert und gefenstert um den Ablauf der Vergiftung auch unmittelbar beobachten zu können. Wegen der langen Versuchsdauer scheiterte das Bestreben, monophasisch abzuleiten, an den sekundären Veränderungen der devitalisierten Ableitungsstelle und es konnten auch nicht Wollfäden als Elektroden benutzt werden; es wurde vielmehr mit chlorierten Silberelektroden abgeleitet, deren eine um die Aorten gelegt worden war, während die andere als kleine Klammer unverrückbar an der Herzspitze saß. Zur Schreibung diente ein Siemens-Spannungselektrokardiograph, Modell 1937. — Es wurden 10%ige Kaltextrakte aus getrockneten und pulverisierten Blättern von Viscum album (Pappel) in der Menge von je 1 ccm in jeden Schenkellymphsack gespritzt. Zur Kontrolle wurden Strophanthin, Verodigen, Scillaren und Digipurat geprüft; die mit diesen Glykosiden gewonnenen Ergebnisse entsprachen den Angaben des Schrifttums.

Versuchsergebnisse.

Frequenz: Die für die Mistelwirkung charakteristische Pulsverlangsamung war in allen Versuchen sehr ausgesprochen (Abb. 1a).

Überleitungszeit: Die Überleitungszeit nahm regelmäßig zu (Abb. 1b). Es war allerdings nicht immer möglich, die Kurven genau

[1] Gaultier, R.: Arch. internat. de pharmacodynam. **20**, 97 (1910); F. Dossin: Ebenda **21**, 425 (1911); E. Lesieur: Thèse, Faculté de medicine, Paris 1910; E. A. Fubini u. L. Antonini: Arch. Farmacol. sper. **12**, 450 (1911); C. Livon: C. r. Soc. Biol. **73**, 363 (1912); Shin Maje: Z. exper. Med. **50**, 549 (1926); U. G. Bijlsma: Arch. néerld. Physiol. **11**, 142 (1927); J. Nolle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **158**, 90 (1930). — [2] Ebster, H., u. A. Jarisch: Ebenda **145**, 297 (1929). — [3] Henze, C., u. W. Ludwig: Ebenda **187**, 694 (1938).

auszumessen, weil P bald klein wurde und auch gänzlich verschwand, auch wenn bei der Beobachtung noch schwache Bewegungen des in der

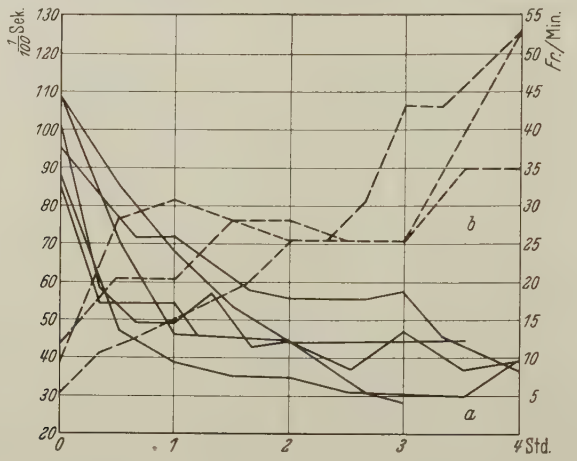


Abb. 1. *a* Abnahme der Schlagfrequenz; *b* Zunahme der Überleitungszeit.

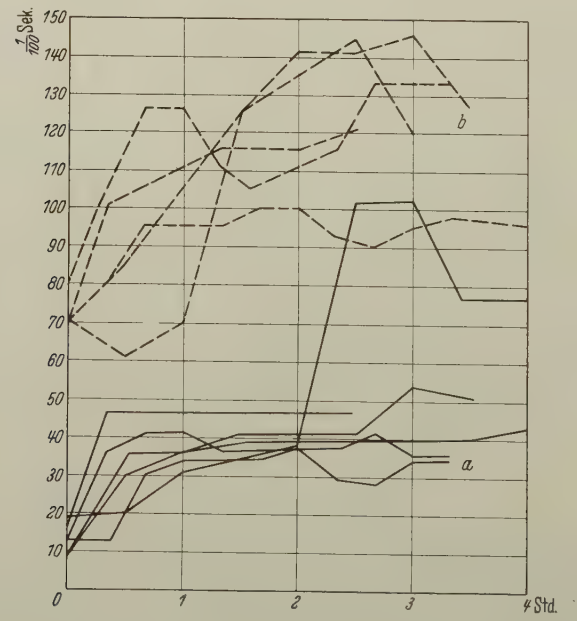


Abb. 2. *a* Verbreiterung der Anfangsschwankung; *b* Verlängerung der Systolendauer.

Regel stark geblähten Vorhofes zu sehen waren. Es entspricht dies den Beobachtungen von Henze und Ludwig am Warmblüter.

Anfangsschwankung: Da *Q* beim Frosche fehlt, beschränkte ich mich darauf, die Breite von *R* zu messen; wegen der Rundung an der

Basis sind auch diese Zahlen nicht sehr genau. Immerhin ließ sich als regelmäßiger Befund feststellen, daß R breiter wurde (Abb. 2a); dabei traten Deformierungen auf und R wurde auch kleiner.

Nachschwankung: Die Nachschwankung wurde bald flacher, um schließlich negativ zu werden und das Zwischenstück sank unter die isoelektrische Linie herab, wie dies von Henze und Ludwig beim Warmblüter in den späteren Vergiftungsstadien beschrieben wurde.

Systolendauer: Regelmäßig wurde ferner R-T länger und nahm in einzelnen Versuchen bis auf das Doppelte zu (Abb. 2b).

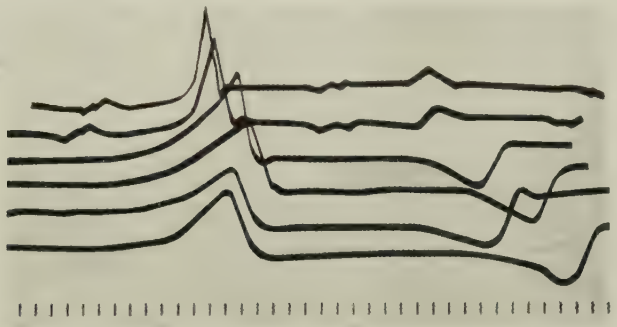


Abb. 3. Veränderungen im Eg. des Froschherzens nach der Injektion von Mistelextrakten. Zeiten: 0, 2, 20, 50, 100, 200 Minuten.

Die Abb. 3 vermittelt an einer Reihe von Eg., die aus einem Versuche stammen und übereinander projiziert wurden, einen allgemeinen Eindruck der Wirkung. Diesen Veränderungen entspricht bei der bloßen Betrachtung des Herzens, daß die Kontraktionen träger werden und schließlich „wurmartig" verlaufen. Da die Veränderungen des Eg. darauf hinweisen, daß die Ausbreitung der Erregung in der Muskulatur erschwert ist, sei noch erwähnt, daß man häufig in den späteren Stadien der Vergiftung Gelegenheit hat, die Erscheinung der „lokalen Diastole" zu beobachten; wenn man nämlich den Ventrikel beklopft, dann bleibt die gereizte Stelle für eine Reihe von Herzschlägen schlaff und wölbt sich bei der Kontraktion des Ventrikels buckelartig vor[4]; die Erscheinung gleicht der „anodischen Beule" und ist wie diese wohl darauf zurückzuführen, daß an der mechanisch gereizten Stelle die Ausbreitung der Erregung blockiert ist.

Rhythmusstörungen: Von Störungen der Herzrhythmik konnten vereinzelte Kammerextrasystolen registriert werden. Ferner muß die langsame Herztätigkeit in den späteren Vergiftungsstadien wohl als a-v-Rhythmus gedeutet werden, wenn nämlich alle Zeichen einer Vorhofstätigkeit fehlen.

[4] Jarisch, A.: Wien. klin. Wschr. **1938**, S. 183.

Atropin: Durch Atropinisieren, sei es des ganzen Tieres vor dem Versuche oder durch Aufträufeln von Atropin auf das Herz nach dem Eintritt der Wirkung ließen sich die Veränderungen nicht beeinflussen; ebensowenig durch Zerstörung des Zentralnervensystems. Dies entspricht der Angabe von Nolle[5], daß durch die genannten Eingriffe die Pulsverlangsamung nicht aufgehalten werden kann.

Besprechung der Ergebnisse.

Versucht man die beschriebenen Veränderungen kurz zu kennzeichnen, so gelingt dies wohl am besten mit der Bezeichnung „digitalisartig". Wie bei den Digitaliskörpern finden wir eine durch Atropin nicht beeinflußbare Hemmung der Reizbildung[6], die allerdings bei der Mistel außerordentlich stark ist; ferner zeigt sich eine Erschwerung der Überleitung vom Vorhofe zum Ventrikel, die ebenfalls atropinfest ist und der direkten Wirkung der Digitalisglykoside auf die Überleitung[7] entspricht; schließlich finden sich die gleichen Formveränderungen im Kammerteil des Eg., die de Boer[8], Schellong[9] und andere bei der Digitaliswirkung beobachteten und mit einer Erschwerung der Reizleitung im Ventrikel erklärten, nämlich die Verbreiterung der *R*-Zacke, das Kleiner- und schließlich Negativwerden der *T*-Zacke, die Senkung des Zwischenstückes und die Zunahme der Systolendauer. Schließlich hat Atropin auf den Ablauf der Mistelwirkung ebensowenig Einfluß wie auf den der Digitaliswirkung[10]. Die Übereinstimmung von Mistel und Digitaliswirkung geht also, was die Art der Veränderungen anlangt, sehr weit, im Quantitativen ist allerdings insofern ein Unterschied, als die Veränderungen bei der Mistel Grade erreichen, wie sie bei den Digitalisglykosiden nicht angetroffen werden. Um Mißverständnissen vorzubeugen, sei betont, daß, wenn die Mistelwirkung hier als digitalisartig bezeichnet wird, doch der Frosch nicht mit einem analytischen Chemiker verwechselt wurde.

Zusammenfassung.

Das Elektrokardiogramm des Froschherzens zeigt nach der Injektion von Extrakten aus Viscum album: Pulsverlangsamung, Verlängerung der Überleitungszeit, Verschwinden der Vorhofszacke und Zeichen einer erschwerten Ausbreitung des Reizes im Ventrikel; diese Veränderungen treten trotz Atropin auf.

---

[5] Nolle, J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **158**, 90 (1930). — [6] de Boer, S.: Arch. néerld. Physiol. **1**, 502 (1917); A. R. Cushny: Digitalis, London 1925, S. 47; H. Schönleber: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **87**, 356 (1920). — [7] Cushny, A. R.: Digitalis, London 1925, S. 47; T. Lewis, A. N. Drury u. C. C. Iliescu: Heart **9**, 20 (1921); Meyer-Gottlieb: Experimentelle Pharmakologie, 8. Aufl., 1933, S. 344. — [8] de Boer, S.: Pflügers Arch. **173**, 78 (1919). — [9] Schellong, F.: Z. exper. Med. **75**, 767 (1931). — [10] Werschinin, N.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **60**, 328 (1909); L. Lendle: Ebenda **169**, 591 (1933).

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Innsbruck.

Die pulsverlangsamende Wirkung der Mistel.

Von

Dr. **Hans Richter** und Dr. **Hans Schröcksnadel.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. August 1938.)

Nach der Injektion von Extrakten aus Viscum album wurde von fast allen Untersuchern eine Pulsverlangsamung beobachtet. Der Mechanismus dieser Wirkung ist komplex und je nach den Versuchstieren und wohl auch den Stadien der Vergiftung verschieden. Am Frosche beobachtet man eine hochgradige Verlangsamung, die durch Atropin oder Zerstörung des Vaguszentrums nicht aufgehalten werden kann[1], also kardialmuskulären Ursprungs ist und allmählich zu einem tonischen Herzstillstande überleitet. Beim Warmblüter folgt der Pulsverlangsamung eine Phase rascherer Herztätigkeit mit Arrhythmien infolge heterotoper Reizbildung[2]. Die Pulsverlangsamung des Warmblüters kommt über das Vaguszentrum zustande, denn sie ist durch Unterbrechung der nervösen Leitung im Halsvagus behebbar. Nolle[1] dachte an eine unmittelbare Erregung des Vaguszentrums, wogegen Jarisch und Henze[3] eine reflektorische annehmen, die durch chemische Erregung depressorischer aus dem Herzen stammender und im Halsvagus verlaufender Nerven zustande kommt; diese wird auch als Ursache der gleichzeitig mit der Pulsverlangsamung einsetzenden Blutdrucksenkung betrachtet[4].

Wir machten uns zur Aufgabe, die Pulsverlangsamung bei der Katze mit dem Ordinatenschreiber von Fleisch fortlaufend zu registrieren und den Mechanismus der Verlangsamung mit Hilfe von Atropin sowie der reversiblen Vagusausschaltung durch Kühlen und Wiedererwärmen zu untersuchen.

Methodisches. Katzen erhielten zur Narkose pro kg 0,05 g Chloralose mit 0,25 g Urethan in je 8 ccm 0,9%iger Kochsalzlösung gelöst intramuskulär in die Oberschenkel. Blutdruckregistrierung mit Hg-Manometer aus der A. femoralis. Zur Frequenzregistrierung Häkchenübertragung von der Herzspitze, wobei das Herz zur Fixierung auf eine löffelartig gebogene Platte gelegt wurde. Diese Häkchenübertragung war für den Ablauf der Mistelwirkung insofern nicht ganz ohne Einfluß, als die heterotopen Herzrhythmen früher auftraten als den Erfahrungen im hiesigen pharmakologischen Institut im allgemeinen entsprach, was durch den Reiz des Häkchens und die veränderte Lagerung des Herzens auf der untergelegten

---

[1] Nolle, J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **158**, 90 (1930); H. Ebster: Ebenda **191**, 19 (1938). — [2] Henze, C., u. W. Ludwig: Ebenda **187**, 694 (1937). — [3] Jarisch, A., u. C. Henze: Ebenda **187**, 706 (1937). — [4] Jarisch, A.: Wien. klin. Wschr. **1938**, S. 1032.

Platte ausreichend erklärt ist. — Kühlung und Erwärmung des Halsvagus nach den Angaben von Henze[5]. — Die Atropinisierung erfolgte durch langsame Injektion von Atropin in Einzelgaben von 0,25—0,5 mg in die Halsvene und zwar deshalb so vorsichtig, weil nach den Erfahrungen im hiesigen pharmakologischen Institut größere Atropindosen die Blutdruckreaktionen beeinträchtigen, was mit dem Einfluß des Atropins auf den Konstriktorenapparat der Gefäße zusammenhängt[6].

Es wurden 2%ige wässerige Extrakte aus getrockneten Blättern von Viscum album (Pappelmistel) fraktioniert in Einzelgaben von meist 0,2 ccm im Abstande von etwa 1 Minute in die Halsvene injiziert, bis die Wirkung eintrat.

Ausmaß und Eintritt der Pulsverlangsamung.

Unsere diesbezüglichen Erfahrungen decken sich mit den Angaben von Jarisch und Henze[7]. Die Empfindlichkeit der Tiere war verschieden;

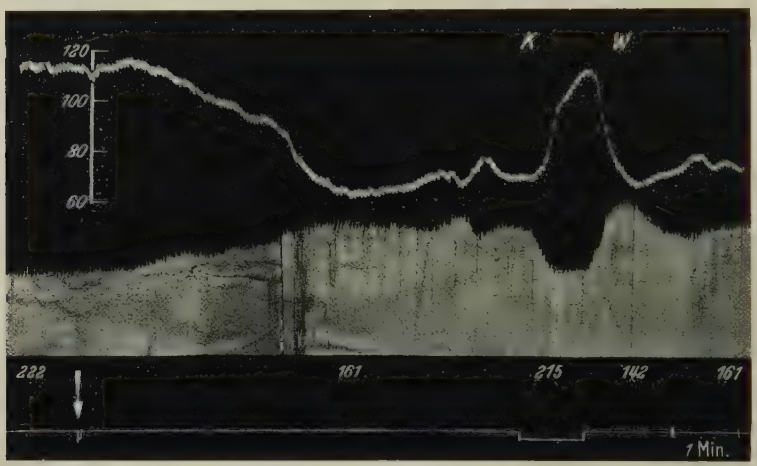


Abb. 1. Katze 3300 g in Chloralosenarkose; oben Blutdruck, unten Ordinatenschreibung (die Ziffern bedeuten Herzfrequenzen). Bei ▼ wurden 0,4 ccm eines 2%igen Mistelextraktes injiziert. *K* Kühlung, *W* Wärmung des Halsvagus.

einerseits mußten verschiedene Mengen des 2%igen Extraktes injiziert werden, bis die Wirkung eintrat (0,4 bis 1,8 ccm), und andererseits betrug das Ausmaß der Verlangsamung in 17 Versuchen zwischen 10 und 48%. Die Pulsverlangsamung setzte kurz vor, gleichzeitig mit oder kurz nach dem Beginn der Blutdrucksenkung ein. In dem Versuch der Abb. 1 genügte eine einmalige Injektion von 0,4 ccm, um die Reaktion auszulösen. Die Pulsverlangsamung hatte hier eine Latenz von 45 Sekunden und die Blutdrucksenkung eine von 55 Sekunden.

---

[5] Henze, C.: Arch. int. de pharmacodyn. **53**, 44 (1936). — [6] Hildebrandt, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **86**, 225 (1920); P. Regniers: Arch. int. de pharmacodyn. **31**, 429 (1926); H. Kikkawa: Ber. Physiol. **92**, 662 (1936); Raymond-Hamet: C. r. Soc. Biol. Paris **122**, 42 (1936). — [7] Jarisch, A., u. C. Henze: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 706 (1937).

Aus- und Einschaltung des Halsvagus.

Mit der Unterbrechung der nervösen Leitung im Halsvagus durch Abkühlen steigt die Pulsfrequenz regelmäßig an, und zwar meist bis über

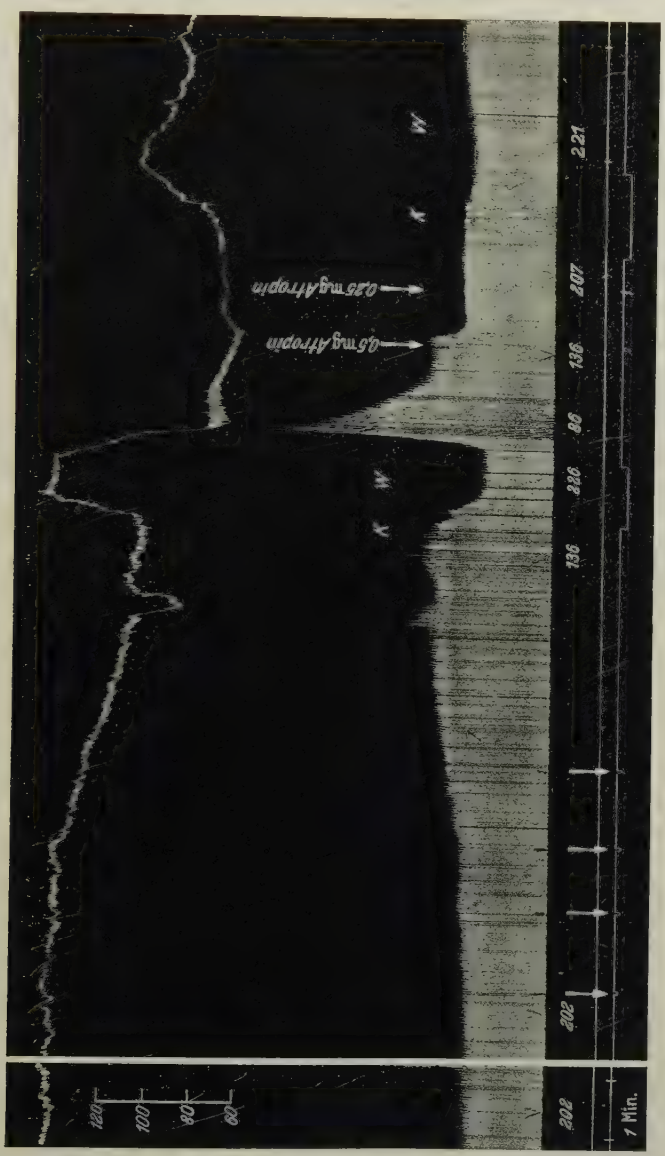


Abb. 2. Katze 3020 g in Chloralosenarkose; oben Blutdruck, unten Ordinatenschreibung (die Ziffern bedeuten Herzfrequenzen). Die ▼ kennzeichnen die letzten 4 von 9 Injektionen eines 2%igen Mistelextraktes zu 0,2 ccm. *K* Kühlung, *W* Wärmung der Halsvagi. — Die Kurve zeigt die Folgen der Vagusausschaltung vor und nach der Atropinisierung.

den Ausgangswert (Abb. 1 und 2). Mit der Wiedereinschaltung des Vagus durch Erwärmen setzt die Bradykardie wieder ein, und zwar ist der Herzschlag zunächst oft außerordentlich stark verlangsamt (Abb. 2), um erst

nach 1—2 Minuten die Frequenz vor der Vaguskühlung zu erreichen. Diese auffällige Verstärkung der Bradykardie nach der Wiedereinschaltung des Vagus ist nahezu ein regelmäßiger Befund, wechselt jedoch in ihrem Grade; sie ist auch in den Abb. 6 und 9 der Arbeit von Jarisch und Henze[1] zu sehen. Es sieht so aus, als ob sich die Vaguserregung „gestaut" hätte und erst mit der Erwärmung des Nerven wieder abfließen könnte. Wir sind außerstande, derzeit eine ausreichende Erklärung dieser sonderbaren Erscheinung zu geben, doch haben wir zwei Deutungsmöglichkeiten im Auge. Es könnte sein, daß die Abkühlung (die allerdings nie bis zur Durchfrierung getrieben wurde) für den Nerv eben doch nicht völlig gleichgültig ist, sondern in der gekühlten Strecke eine Art „Parabiose" hervorruft (Schaefer und Schmitz[8]), die beim Durchlaufen der tonischen Erregung nach der Wiedererwärmung Anlaß zu sekundären Reizbildungen an der Kühlstelle gibt; man könnte aber auch daran denken, daß es sich um eine Sensibilisierung der Vagusperipherie durch die Ausschaltung des Vagustonus handelt, wie sie von Gremels[9] nach der Vagusdurchschneidung beobachtet wurde und mit dem Potentialgiftcharakter der Acetylcholinwirkung erklärt wird; man könnte sich nämlich vorstellen, daß während der Vagus am Halse durch die Kühlung unterbrochen ist, der Loewische Vagusstoff im Herzen unter dem Einfluß der Esterase völlig verschwindet und daß nun ein besonders starkes Potentialgefälle zwischen „Vagusendigung" und Herzmuskelzelle auftritt, sobald der durch die Mistel verstärkte Vagustonus das Herz wieder erreichen kann. Es ist uns aber noch nicht gelungen, diese Auffassung experimentell zu belegen.

Atropinisierung.

Nach der Atropinisierung wird die Herztätigkeit rasch (Abb. 2), erreicht jedoch, wie Jarisch und Henze[10] bemerkten, nicht die Frequenz der Kühlperiode; dabei steigt der Blutdruck nicht oder nur unbedeutend an.

Direkte oder reflektorische Erregung des Vaguszentrums?

Daß die Mistelbradykardie über das Vaguszentrum zustande kommt, war nach dem Ausfall der beschriebenen Versuche sicher; fraglich blieb nur, ob sie durch direkte Erregung des Vaguszentrums durch das Mistelgift entsteht, wie Nolle[11] dies annahm oder reflektorisch durch die Erregung von Chemodepressoren im Sinne von Jarisch und Henze. Da im Vagus die afferenten und die efferenten Fasern gemischt verlaufen, war die Frage nur mittelbar zu beantworten, und zwar auf Grund der folgenden Beobachtungen.

---

[8] Schaefer, H., u. W. Schmitz: Z. Sinnesphysiol. **64**, 161 (1933). — [9] Gremels, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 360 (1935). — [10] Jarisch, A., u. C. Henze: Ebenda **187**, 706 (1936). — [11] Nolle, J.: Ebenda **158**, 90 (1930).

Wenn man nach der Atropinisierung den Vagus kühlt, tritt immer noch eine Beschleunigung des Herzschlages auf (Abb. 2 und 3). Sie betrug in unseren Versuchen 8—14%. Diese Restbeschleunigung darf nun nicht auf eine unvollständige Atropinisierung bezogen werden, denn wir haben uns durch Faradisierung des Vagus peripher von der Kühlstelle regelmäßig davon überzeugt, daß die Atropinwirkung ausreichend war, den Übergang auch starker Vaguserregungen auf das Herz vollständig zu blockieren. Die Beschleunigung im atropinisierten Zustande konnte darum nur mehr daher

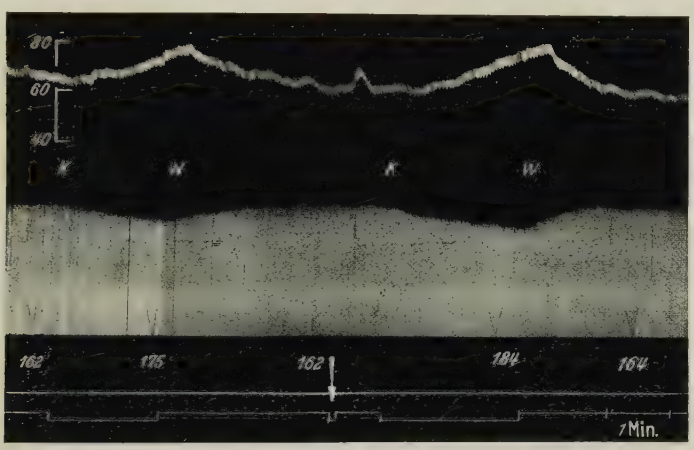


Abb. 3. Katze 3500 g in Chloralosenarkose; Bezeichnung wie früher. Es waren zunächst 7 mal 0,2 ccm eines 2%igen Mistelextraktes und danach 2 mal 0,25 mg Atropin injiziert worden. Hierauf wurde zweimal der Vagus gekühlt; das Kurvenstück zeigt diese zwei Kühlperioden. — Bei der Vagusausschaltung im atropinisierten Zustande treten hier Restbeschleunigungen von 8 und 12% auf. Die Faradisierung des rechten Halsvagus mit Rollenabstand 10 bei ↓ beweist, daß ausreichend atropinisiert worden war.

kommen, daß infolge der Vaguskühlung der Tonus im sympathischen System zunahm, wie dies regelmäßig nach der Ausschaltung tonusführender depressorischer Nerven, z. B. des Carotissinus, der Fall ist.

Die Restbeschleunigung bei der Vaguskühlung nach Verabreichung von Atropin ist somit eine Entzüglungsreaktion, also reflektorischer Natur. Im Halsvagus verlaufen nun mindestens zwei Arten von Zügeln für die Kreislaufzentren, die Aortennerven — sofern sich nicht ein Teil ihrer Fasern als N. depressor selbständig macht, wie beim Kaninchen beiderseits und bei der Katze zumeist links — und die depressorischen Fasern aus dem Herzen, auf deren Erregung Jarisch und Henze die Mistelwirkung bezogen. Auf die Unterbrechung welcher Fasern kommt es nun an?

Es läßt sich wie folgt zeigen, daß die Unterbrechung der afferenten Fasern aus dem Herzen das Maßgebende sein muß:

1. Bei der Mistelwirkung sinkt der Blutdruck; bei niedrigem Blutdruck nimmt aber die Erregungsgröße der Pressorezeptoren ab. Sie wird

nach der Blutdruckcharakteristik des Carotissinus von Koch[12] bei der Katze bei etwa 70 mm Hg gleich Null. Es verschwindet mit anderen Worten bei niedrigem Blutdruck der afferente Tonus der Aortennerven; wenn diese aber ohnehin tonuslos sind, dann kann ihre Unterbrechung bei der Kühlung nichts mehr ausmachen. Die Kühlung kann vielmehr nur dann beschleunigend wirken, wenn sie Fasern unterbricht, die auch bei niedrigem Blutdruck einen Tonus führen und das können nach Lage der Dinge nur jene afferenten Fasern aus dem Herzen sein, die nach der Auffassung von Jarisch und Henze chemisch erregt werden.

2. Wir haben die Aortennerven an ihrer Ursprungsstelle durch Ausschälen der Aorta und der Wurzeln der großen Gefäße unterbrochen und danach Mistelextrakte injiziert und atropinisiert, trotzdem wurde der Herzschlag bei der Vaguskühlung immer noch rascher. Allerdings betrug die Beschleunigung nur mehr 3—5%, doch ist nicht mehr zu erwarten, denn es werden ja bei der Operation auch die N. accelerantes durchschnitten und es kann sich dann die Tonisierung im sympathischen System nur mehr über die Nebennieren auswirken. Daß aber bei unserer Versuchsanordnung die Ausschüttung von Adrenalin aus dem Nebennierenmark nach der Entzügelung bei der Vaguskühlung genügte, davon überzeugten wir uns in einem ähnlichen Versuche, in dem beide Ggl. stellata exstirpiert worden waren und dennoch eine gewisse Restbeschleunigung bei der Vaguskühlung auftrat.

Diese Überlegungen und Versuche zeigen also, daß die Beschleunigung des Herzschlages, die bei der Mistelwirkung nach ausreichender Atropinisierung auftritt, wenn man die nervöse Leitung im Halsvagus unterbricht, daher kommt, daß afferente Fasern depressorischer Natur unterbrochen werden, deren Rezeptoren durch das Mistelprinzip tonisch erregt wurden. Bei der Mistelwirkung werden — grundsätzlich ähnlich wie bei der Erregung der Aortennerven oder der Carotissinusnerven — alle Kreislaufzentren in depressorischem Sinne umgestellt; eine Teilfolge davon ist, daß der Acceleranstonus sinkt (reziproke Acceleranshemmung nach v. Brücke[13]). Bei der Vaguskühlung wird nun der Mistelreflex im afferenten Teile unterbrochen und deshalb ist die Restbeschleunigung, die auch nach Atropin noch auftritt, letzten Endes die Folge davon, daß die reziproke Acceleranshemmung aufhört.

Zusammenfassend ergibt sich somit, daß die Pulsverlangsamung nach der Injektion von Mistelextrakten sozusagen aus zwei Teilen besteht: Aus einer Erregung des Herzhemmungsapparates und einer parallel verlaufenden Hemmung des Herzerregungsapparates; beide haben als gemeinsame Ursache die chemische Erregung einer depressorischen Kreislaufeinrichtung, deren afferente Bahn im Vagus verläuft. Dieser Auffassung

---

[12] Koch, E.: Die reflektorische Selbststeuerung des Kreislaufes, S. 201. Dresden 1931. — [13] Brücke, E. Th. v.: Z. Biol. **67**, 507 (1917).

entspricht völlig das Verhalten der druckregulierenden Apparate, denn es steigt der Blutdruck bei der Vaguskühlung zum Ausgangswert, um bei der Erwärmung wieder abzufallen (Abb. 1 und 2).

Zu der Erregung des Herzhemmungsapparates kommt dann, ihre Wirkung verstärkend, die von Nolle[11] sowie von Henze und Ludwig[14] beobachtete Sensibilisierung der Vagusperipherie durch die Mistel hinzu.

Zusammenfassung.

1. Die Pulsverlangsamung im ersten Stadium der Mistelwirkung bei der Katze ist zentralen Ursprungs; es kommt zu einer Erregung des Vaguszentrums und gleichzeitig zu einer Hemmung des Acceleranszentrums.

2. Die gemeinsame Ursache ist das Wirksamwerden einer depressorischen Kreislaufeinrichtung, deren Rezeptoren im Herzen liegen und deren afferente Fasern im Vagus verlaufen.

[14] Henze, C. u. W. Ludwig: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 694 (1937).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Innsbruck.

Lebervolumen und Mistelwirkung.

Von

A. Jarisch und C. Henze.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. August 1938.)

In einer vorhergehenden Mitteilung[1] versuchten wir nachzuweisen, daß die blutdrucksenkende Wirkung der Mistel reflektorisch durch eine chemische Erregung depressorischer, aus dem Herzen stammender und im Vagus verlaufender Nerven zustande kommt. Nun haben wir das Verhalten des Lebervolumens bei der Mistelwirkung untersucht, erstens um über die Beteiligung der Lebergefäße an der Reaktion näheres zu erfahren (Milz, Darm und Bein waren bereits früher[1] plethysmographiert worden) und zweitens um festzustellen, ob sich aus der Reaktion der Leber weitere Beweise für die Reflexnatur der Mistelwirkung erbringen ließen.

Methodisches. Zur Leberonkometrie änderten wir das Verfahren von Mautner und Pick[2] etwas ab. Die Grundplatte mit dem Einschnitt für den Leberhilus (für verschiedene Tiergrößen 8 : 8,5 und 9 : 9,5 cm) war eben und überragte die Onkometerkapsel allseits um 0,5 cm; der Rand hatte gleichmäßig verteilt 8 Löcher, in die Wollfäden geknüpft waren. Es wurden die Leberlappen durch Abtrennen der Ligamente beweglich gemacht und die Platte so eingelegt, daß ihr 1,2 bzw. 1,5 cm breiter und 2,0 bzw. 2,5 cm tiefer Einschnitt den Leberhilus derart umfaßte, daß der größte Teil der Leber auf die Platte zu liegen kam. Dann wurde die gläserne Onkometerkapsel aufgesetzt und die Wollfäden darüber verknüpft; zur Abdichtung trugen wir eine Mischung aus Vaselin, Lanolin und Wachs auf, die bei Körpertemperatur eben erstarrte und verschmolzen sie mit einem heißen Draht; darauf wurden die Ränder der T-förmigen Laparatomiewunde soweit zusammengezogen, daß nur mehr die Kapsel heraussah. Das Onkometer hielt danach vollkommen dicht und gestattete einmal sogar die Registrierung des Lebervolumens während eines Strychninkrampfes. Da das Gewicht der inner- und außerhalb der Kapsel gelegenen Leberteile nach dem Versuch gewogen wurde, konnte auf die gesamte Leber umgerechnet werden und so die Onkometrie quantitativ gestaltet werden. — Volumenregistrierung mit Luftübertragung und einem geeichten Palmer-Piston von 3 cm Durchmesser. Hg-Manometer in der linken Carotis. — Zur Schreibung des Venendruckes wurde eine möglichst weite Glaskanüle durch die V. subclavia unter Leitung des Auges bis in die obere Brustapertur vorgeschoben, so daß die erhaltenen Werte den Druck in der oberen Hohlvene wiedergaben; zeitweilige Gegeninfusion mit gesättigter Natriumbicarbonatlösung mit Chlorazolzusatz; in der Zuleitung ein Steigrohr mit Millimeterskala und Luftübertragung zu einem kleinen Volumenschreiber; zur Kontrolle wurde der Stand der Flüssigkeit im Steig-

[1] Jarisch, A., u. C. Henze: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 706 (1937); Wien. klin. Wschr. **1938**, S. 1032. — [2] Mautner, H., u. E. P. Pick: Ebenda **97**, 306 (1923).

rohre fortlaufend auf der Kurve notiert. — Vaguskühlung, Mistelextrakte (Pappelmistel) und ihre Zufuhr wie früher[1] beschrieben. Katzen in Chloralosenarkose; fortlaufende Kontrolle der Rektaltemperatur.

Verhalten des Lebervolumens bei verschiedenen Eingriffen.

Um die Versuchsanordnung zu prüfen und eigene Erfahrungen über die Volumenreaktionen der Leber zu sammeln, wurden auch folgende Eingriffe geprüft:

1. Infusion von 5 bis 10 ccm 0,9%ige Kochsalzlösung erhöhte entsprechend den Angaben von Roca und Lamson[3] das Lebervolumen.

2. Bei der Ausschaltung des Carotissinus verkleinerte sich die Leber zumeist (Abb. 1a), wie dies bereits von Heymans und seinen Mitarbeitern[4] beobachtet worden war; in einigen Versuchen war jedoch die Reaktion entsprechend der Angabe von Gollwitzer-Meier und Schulte[5] nicht eindeutig.

3. Bei der Erstickung trat gleichzeitig mit dem Blutdruckanstieg eine energische Volumenabnahme der Leber ein (Abb. 1b).

4. Bei einer im Schockzustande befindlichen Katze bewirkten 0,2 mg Strychnin kurz dauernde Krämpfe und gleichzeitig nahm das Lebervolumen um 2 ccm ab und es stieg der Blutdruck um 40 mg Hg; das blieb dann so.

5. Adrenalin bewirkte in blutdrucksteigernden Gaben die scharfe von Mautner und Pick und anderen beschriebene Volumenabnahme; blutdruckunwirksame Gaben ließen häufig, doch nicht regelmäßig, die Leber anschwellen und bei den kleinsten blutdrucksenkenden Gaben nahm das Lebervolumen stets ab (Abb. 1c).

6. Faradisierung des peripheren Vagusstumpfes bis zur deutlichen Senkung des arteriellen Druckes bewirkte, trotzdem der Cavadruck anstieg, eine Verkleinerung der Leber (Abb. 1d).

7. Auch nach Amylnitrit trat eine mit der Blutdrucksenkung parallel laufende Volumenabnahme ein.

8. Die Mistel bewirkt oft einen plötzlichen Herztod mit steilem Blutdruckabfall[6]. Dabei nimmt das Lebervolumen zunächst etwas ab, obwohl der Venendruck mit dem Beginn der Herzstörung rasch ansteigt; erst wenn der Venendruck 5—6 cm Wasser erreicht hat, überträgt sich die Stauung auf die Leber und sie schwillt an.

Aus diesen Beobachtungen ergibt sich: 1. daß die Leber zentralkonstriktorische Einflüsse wie Carotisreflex, Erstickung und Strychnin-

---

[3] Lamson, P. D., u. J. Roca: J. Pharmakol. (Am.) **17**, 481 (1921). — [4] Heymans, C., J. J. Bouckaert u. L. Dautrebande: Arch. intern de pharmacodyn. **40**, 292 (1931). — [5] Gollwitzer-Meier, Kl., u. H. Schulte: Pflügers Arch. **229**, 264 (1931). — [6] Ebster, H., u. A. Jarisch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **145**, 297 (1929).

wirkung mit Verkleinerung beantwortet und 2. daß bei vielen Blutdrucksenkungen wie nach kleinsten Adrenalinmengen, Amylnitrit, Faradisieren des peripheren Vagusstumpfes und Herzstillstand gleichfalls eine Volumen-

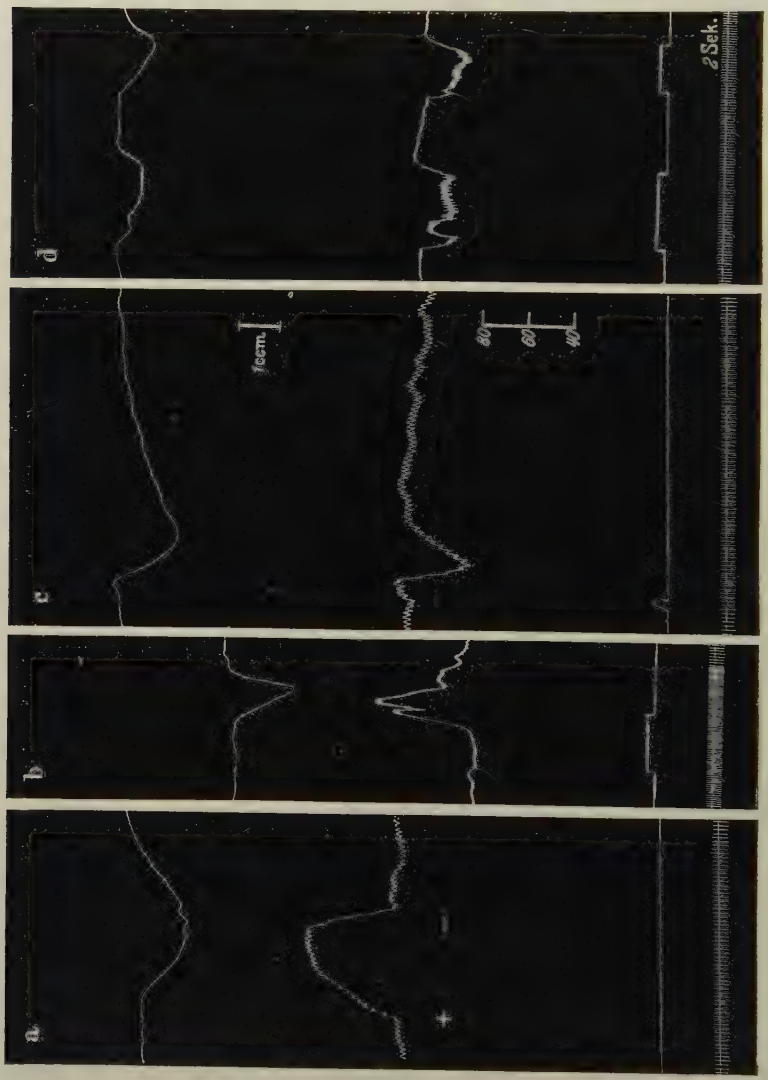


Abb. 1. Katze, 2200 g in Chloralosenarkose; oben Lebervolumen, unten Blutdruck aus der linken Carotis. a) von +- bis +-Verschluß der rechten Carotis; b) Erstickung durch Verschluß der Trachea; c) beim Zeichen 1 ; Adrenalin; d) bei den Zeichen Faradisierung des peripheren Vagusstumpfes.

verminderung der Leber eintritt. Diese ist bei dem großen Blutreichtum der Leber zweifellos zum Teil druckpassiv, es muß aber auch noch ein der Drucksenkung entgegenwirkender konstriktorischer Reflex[7] auf die

[7] Cuypers, H.: Arch. int. de pharmacodyn. **50**, 226 (1935); Mateeff, D., u. M. Schneider: Pflügers Arch. **236**, 606 (1935).

Lebergefäße mitwirken, denn sonst wäre nicht zu verstehen, daß die in manchen Fällen die Drucksenkung begleitende Erhöhung des Cavadruckes (bei der Herzhemmung durch Vagusreiz sowie beim Herzstillstande) nicht sofort zu einer „Leberstauung" führt. Auch bei der Erstickung vermag der hohe Druck in der V. cava erst in den letzten Stadien die Leber zum Anschwellen zu bringen.

Mistelwirkung.

Der Mistelextrakt wurde wie in unseren früheren Versuchen in Einzelgaben von 0,2 ccm alle Minuten injiziert, bis die Wirkung eintrat. Das Volumen der Leber änderte sich hierbei im allgemeinen wenig und auch

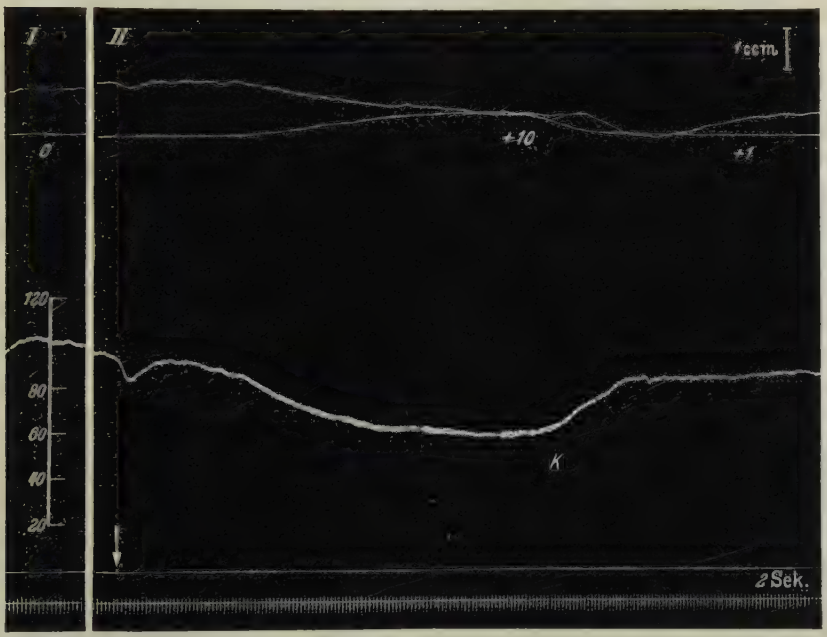


Abb. 2 Katze, 2400 g in Chloralosenarkose; oben Lebervolumen, darunter Druck in der V. cava sup. die Zahlen geben die Abweichungen des Venendruckes vom Ausgangswerte in mm Wasser an), unten Blutdruck aus der linken Carotis. I. Ausgangswerte; II. ▼ bezeichnet die letzte von 4 Injektionen eines 2%igen Mistelextraktes zu 0,2 ccm. *K* Kühlung, *W* Wärmung beider Halsvagi. — Die Kurve zeigt erst eine druckpassive Abnahme des Lebervolumens, trotzdem der Cavadruck infolge der an der Pulsverlangsamung kenntlichen Herzhemmung ansteigt und nach der Vaguskühlung eine Vasokonstriktion in der Leber.

nicht gleichförmig. In 6 von 16 Versuchen nahm es im Anfang, d. i. bevor der Blutdruck zu sinken begann, etwas (bis 1 ccm) zu; mit dem Abfall des arteriellen Druckes wurde die Leber in 14 Versuchen kleiner (Abb. 2); in einem Versuche blieb sie unverändert und in einem nahm das Volumen sogar zu. Die Volumenabnahme ist zweifellos druckpassiv, denn es fällt mit dem arteriellen Druck auch der Druck in der Pfortader [8]. Die gelegent-

lich beobachtete Zunahme des Lebervolumens im Anfang und das Ausbleiben der Abnahme bei fallendem Aortendruck in zwei Versuchen deutet hingegen auf eine Erschlaffung der Lebergefäße hin.

Es ergibt sich somit, daß sich die Leber anders verhält wie die Milz[8], die prompt und stark anschwillt, sobald die Mistelwirkung einsetzt und in ihrem Verhalten dem Darm und den Extremitäten gleicht, deren Volumenreaktionen gleichfalls unbedeutend und wechselnd sind.

Im allgemeinen verliert also die Leber druckpassiv etwas Blut an andere Bezirke, doch sind daneben gewisse Zeichen eines selbständigen Spieles der Lebergefäße zu bemerken.

Aus- und Einschaltung des Vagus.

Beim Aus- und wieder Einschalten der nervösen Leitung im Halsvagus durch den Kühlversuch, wenn nach der Injektion von Mistelextrakten der Blutdruck niedrig geworden ist, sind die Eigenreaktionen der Lebergefäße deutlichst ausgeprägt. Das kommt wohl daher, daß die Tonusschwankungen hierbei rasch ablaufen im Gegensatz zum allmählichen Einsetzen der Mistelwirkung, bei der sich der Kreislauf langsam umstellt und genügend Zeit vorhanden ist für kapazitative Ausgleichsvorgänge zwischen den einzelnen Gefäßprovinzen, die auf das Endergebnis dämpfend einwirken; die Dinge liegen hier ähnlich wie bei mechanischen Systemen mit Ausgleichsmöglichkeiten, in denen sich stoßartige Einflüsse bei gleichem Ausmaß stärker auswirken als träge.

In Abb. 2 bewirkt die Vaguskühlung eine Volumenabnahme; das bedeutet eine Gefäßkonstriktion, denn wir sehen, daß gleichzeitig der Druck in der Aorta (und damit in der A. hepatica) ansteigt und wissen, daß dabei auch der Pfortaderdruck zunimmt[8]. Wenn aber in beiden zuleitenden Gefäßen der Druck steigt und die Leber trotzdem schrumpft, dann kann es sich nur um eine aktive Verengerung der Lebergefäße handeln. Später nimmt das Volumen der Leber wieder zu, weil der steigende Aortendruck mehr Blut in die Leber preßt.

Es steigt somit der Tonus der Lebergefäße wenn der Vagus gekühlt wird, wobei nach unserer Auffassung die afferente Bahn des Mistelreflexes unterbrochen wird. Umgekehrt sinkt der Gefäßtonus und es schwillt die Leber wieder an, wenn die nervöse Leitung im Vagus durch Erwärmen freigegeben wird. Dies zeigt sehr schön die Abb. 3; nachdem in einem Mistelversuch die Drucksenkung eingetreten und durch Vaguskühlung behoben worden war, wurde zweimal der Vagus gewärmt; das hier wiedergegebene Kurvenstück zeigt nun den Einfluß dieser Wiedereinschaltung des Vagus. Man sieht, daß hierbei das Lebervolumen ansteigt; da zur

[8] Jarisch, A. u. C. Henze: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 706 (1937).

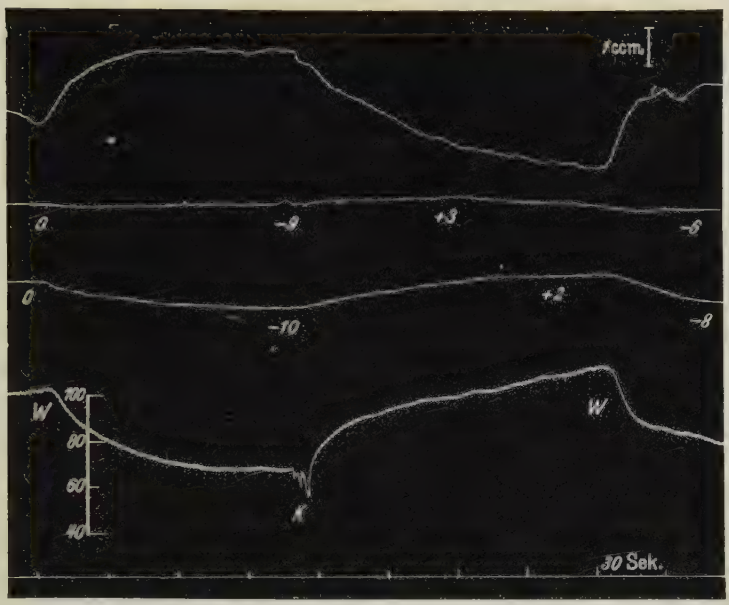


Abb. 3. Katze, 3300 g in Chloralosenarkose. Oben Lebervolumen, darunter: Druck in der V. cava sup., Druck in der Pfortader (dieses Kurvenstück wurde aus einem anderen Versuche eingeklebt) und unten Druck aus der A. femoralis; die Zahlen geben die Abweichung des Venendruckes vom Ausgangswerte in mm Wasser an. *W* Wärmung, *K* Kühlung der Halsvagi. — Durch 6 Injektionen eines 2 %igen Extraktes zu 0,2 ccm war zunächst eine Mistelwirkung ausgelöst worden; danach wurde der Halsvagus gekühlt und zweimal wieder erwärmt; das hier wiedergegebene Kurvenstück zeigt diese zwei Wärmeperioden. — Durch die Erwärmung des Halsvagus wird der Mistelreflex eingeschaltet; nun fällt der Druck sowohl in der Aorta als auch in den Venen, das Lebervolumen nimmt hingegen als Zeichen einer Erschlaffung der Lebergefäße zu.

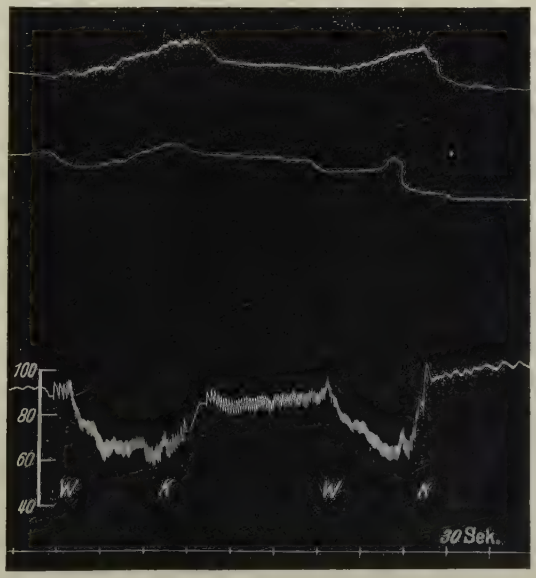


Abb. 4. Katze, 1800 g in Chloralosenarkose. Oben Lebervolumen, darunter Druck in der V. cava sup., unten Druck aus der linken Carotis. *W* Wärmung, *K* Kühlung der Halsvagi. — Hier ist bemerkenswert, daß in der Wärmeperiode der Druck in der V. cava sup. trotz der starken Herzhemmung abfällt. Die Anschwellung der Leber kann also nicht die Folge einer Rückstauung aus den herznahen Venen sein.

gleichen Zeit Druck in der Cava sup., der Pfortaderdruck und der Aortendruck abfallen, kann es sich nur um eine Erschlaffung der Lebergefäße handeln, zumal, wie später erörtert werden soll, von dem Mitspielen einer Lebersperre nicht die Rede sein kann. Die Kurve des Pfortaderdruckes in der Abb. 3 stammt von einem anderen ähnlichen Versuch und wurde hier nur eingeklebt, um die Übersicht zu erleichtern; dieses Vorgehen ist statthaft, weil das Verhalten des Pfortaderdruckes in unseren sämtlichen Versuchen sehr gleichförmig war und die gleichzeitige Registrierung vom Pfortaderdruck und Lebervolumen technisch kaum durchführbar ist.

Die Abb. 4 wurde beigegeben, weil in diesem Versuche mit der Freigabe der Vagusleitung durch das Erwärmen eine besonders kräftige an der starken Bradykardie kenntliche Herzhemmung einsetzt und trotzdem der von der Subclavia aus gemessene Druck in der V. cava nicht ansteigt, sondern prompt fällt; das beweist, daß die Leber nicht etwa anschwillt, weil Blut vom Herzen zurückgestaut wird.

Beweis für die reflektorische Natur der Mistelwirkung.

In unserer ersten Mitteilung suchten wir mittelbar zu erweisen, daß der Mistelwirkung ein depressorischer Reflex zugrunde liegt, der im Halsvagus zentripetal geleitet wird. Wir sind nunmehr in der Lage, hierfür einen unmittelbaren Beweis zu bringen.

Den Baucheingeweiden gehen auf zwei Wegen Nerven zu: Über den Vagus sowie über das Rückenmark bzw. den Grenzstrang und die N. splanchnici. Wir haben in zwei Versuchen beide Vagi über dem Zwerchfell durchschnitten und erhielten trotzdem die vorhin beschriebenen Reaktionen der Leber unverändert. Die Kühlung des Halsvagus konnte hier nicht mehr vorne über den thorakalen Vagus ins Abdomen ziehende Nerven unterbrechen, sondern mußte hinten herum, das ist über das Vasomotorenzentrum, das Rückenmark und den Sympathicus gewirkt haben, sie konnte mit anderen Worten nur die afferente Bahn eines Reflexbogens unterbrochen haben.

Dieses Ergebnis stimmt mit der Tatsache überein, daß sich aus dem Schrifttum keine Anhaltspunkte dafür ergeben, daß der Vagus bei der Katze auf das Lebervolumen wirken könnte.

Ein derartiger Einfluß wäre nur auf folgende Weise denkbar:

1. Die Erregung des Vagus könnte die Gefäße im Darm, Magen usw. erweitern und so einen vermehrten Zustrom von Portalblut bewirken. Es vermißte aber Bunch[10] einen Einfluß des Vagus auf diese Gefäßbezirke und Burton Optiz[11] fand, wenn überhaupt, nur Verengerung.

---

[10] Bunch, J. L.: J. of Physiol. **24**, 89 (1899). — [11] Burton Opitz: Pflügers Arch. **124**, 469 (1908).

2. Es wäre denkbar, daß der Vagus die Lebergefäße zur Erschlaffung bringt oder die Lebersperre schließt und dadurch den Abfluß des Blutes durch die Lebervenen drosselt; daran war nach den Angaben von Mautner und Pick[12] sowie Grab, Janssen und Rein[13] zum mindesten beim Hunde zu denken. Es sahen aber Lampe und Méhes[14] nach Physostigmin, Acetylcholin und Cholacyl nur Verkleinerung der Leber und wir fanden das gleiche bei der Faradisierung des peripheren Vagusstumpfes (Abb. 1d, S. 32). Schließlich vermißten Udinzew[15], ferner Bauer, Dale, Poulsson und Richards[16], sowie Malméjac[17] überhaupt Beweise für einen Einfluß des Vagus auf die Leberzirkulation bzw. auf die Lebersperre. Somit geht die vasomotorische Versorgung der Leber über den Sympathicus; es beweisen auch zahlreiche Angaben des Schrifttums, daß sowohl die elektrische Reizung der Lebernerven, als auch die Wirkung der Sympathomimetica die Lebergefäße verengert, wobei die Leber ausgiebig schrumpft[17].

Der efferente Reflexweg.

Um den Reflexweg im Sympathicus näher zu bestimmen, durchschnitten wir in drei Versuchen den Plexus hepaticus, d. i. das breite von dem in der Regel paarigen Gl. coeliacum zur Leberpforte ziehende Fasergeflecht, konnten aber keine eindeutige Beeinflussung der Leberreaktionen finden. Wir unterbrachen dann die Versuche und es übernahm Dr. Richter[18] die Aufgabe, den Reflexweg für die Leberreaktion bei der Reizung depressorischer Nerven weiter zu ermitteln.

Besprechung der Ergebnisse.

Wenn bei der Mistelwirkung der Blutdruck fällt; dann nimmt auch das Herzminutenvolumen ab[19], weil der Rückstrom des venösen Blutes sinkt. Wo bleibt das Blut? Die Volumetrie der Milz[19], der Leber, des Darmes[19] und der Extremitäten[19] lehrt, daß regelmäßig und auf die Größe des Organs bezogen, ausgiebig nur die Milz Blut speichert (bis 3,5 ccm); der Darm verhält sich wechselnd, wobei Speicherungen bis zu etwa 1,5 ccm vorkommen, das Beinvolumen ändert sich praktisch nicht und die Leber verliert meist sogar etwas Blut, wenigstens wenn der Blutdruck seinen tiefsten Stand erreicht hat. Es ergibt sich somit, daß nennenswerte Blutverlagerungen bei der Mistelwirkung trotz der hochgradigen Blutdruck-

---

[12] Mautner, H.: Monatsschr. Kinderhlkde. **27**, 384 (1924); Wiener Arch. f. inn. Med. **7**, 251 (1924). — [13] Grab, W., S. Janssen u. H. Rein: Z. Biol. **89**, 324 (1930). — [14] Lampe, W. u. J. Méhes: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **119**, 66 (1927). — [15] Udinzew: Die Gefäßmotoren der Leber. Dissertation Kasan 1912. — [16] Bauer, W., H. H. Dale, L. T. Poulsson u. D. W. Richards: J. of Physiol. **74**, 343 (1932). — [17] Malméjac, J.: Nutrition (Fr.) **7**, 113 (1937). — [18] Richter, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 40 (1938). — [19] Jarisch, A., u. C. Henze: Ebenda **187**, 706 (1937).

senkung nicht vorkommen und daß von einer typischen nervös gesteuerten Speicherfunktion nur bei der Milz gesprochen werden kann. Ein „Verbluten in die Gefäße", wie man es sich bei starken Blutdrucksenkungen so gerne vorstellt, findet also, worauf bereits früher aufmerksam gemacht wurde[19], bei der Mistelwirkung nicht statt. Die Abnahme des Blutdruckes und des Herzminutenvolumens kommt somit vorwiegend daher, daß die Wandspannung der das Blut umschließenden Räume nachläßt, und zwar in allen Bezirken gleichmäßig, denn würde einer ausgenommen bleiben und seine normale Wandspannung behalten, dann würde er sich ausbluten; das ist in beschränktem Maße zumeist auch bei der Leber der Fall. Es läßt aber auch in der Leber der Tonus der Gefäße nach; das konnte eindeutig in den Versuchen mit der plötzlichen Aus- und Wiedereinschaltung des Mistelreflexes durch die Vaguskühlung gezeigt werden.

Bei der Analyse der Mistelwirkung bereitet ein Punkt gewisse Schwierigkeiten: die Blutdrucksenkung wird von einer mitunter beträchtlichen an der Bradykardie erkenntlichen Herzhemung begleitet und man ist immer wieder versucht, diese für die Blutdrucksenkung verantwortlich zu machen: sie könnte von einer unmittelbaren Reizwirkung der Mistel auf das Vaguszentrum herrühren und es wäre dann nicht nötig, einen Gefäßreflex anzunehmen. Spricht nun, wie schon seinerzeit ausgeführt wurde, unter anderem das Verhalten des Venendruckes sowie des Herz- und Milzvolumens gegen eine nennenswerte Rolle der Herzhemmung, so werden diese Bedenken endgültig durch den Nachweis gebannt, daß die Leber eindeutige Gefäßreaktionen zeigt, die erstens von der Intaktheit des Halsvagus abhängen und zweitens noch auftreten, wenn der Vagus über dem Zwerchfell durchschnitten ist; es kann sich somit bei der Mistelwirkung nur um einen Reflex handeln, dessen afferente Bahn im Halsvagus dem Vasomotorenzentrum zugeleitet wird und dessen efferente Bahn im Sympathicus verläuft.

An der plethysmographischen Methode wurde wiederholt scharfe Kritik geübt, mit Recht, sofern die vielfach zu weit gehende Deutung von Kurven abgelehnt wird, mit Unrecht, sofern die Methode verdammt wird und damit gewonnene Ergebnisse nicht berücksichtigt werden. Man muß so vorgehen, daß man nicht aus einzelnen Kurven schließt, was alles möglich ist, sondern man muß die Versuche im ganzen so anlegen, daß aus den Kurven hervorgeht, was alles nicht möglich ist. Für sich allein macht auch die ingenöseste Methode nicht selig, bleibt einseitig und das Auslegen von Kurven ist stets so eine Sache: „Im Auslegen seid nur frisch und munter, legt Ihrs nicht aus, so legt was unter" warnt schon Goethe.

Bei der Plethysmographie, besonders der Leber, muß berücksichtigt werden, daß sich auch Vorgänge des Wasserwechsels, Quellung und Entquellung, osmotische Vorgänge bei der Spaltung und Kondensation von

Molekülen, Flüssigkeitsaustritt ins Gewebe sowie Lymph- und Gallenfluß in der Volumenkurve widerspiegeln müssen. Diese Vorgänge brauchen aber längere Zeit und darum wollen wir in unseren Versuchen das Hauptgewicht gerade auf die rasch ablaufenden Vorgänge legen.

Zusammenfassung.

Bei der nach der Injektion von Mistelextrakten eintretenden Blutdrucksenkung erschlaffen die Lebergefäße.

Diese Reaktion der Lebergefäße ist ein Reflex, dessen afferente Bahn im Halsvagus und dessen efferente Bahn im Sympathicus verläuft.

Trotz der Erschlaffung der Lebergefäße kommt es beim Wirksamwerden der Mistel zu keiner nennenswerten Speicherung von Blut in der Leber.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Innsbruck.

Über das Verhalten des Lebervolumens bei den Kreislaufreflexen.

Von

Hans Richter.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. August 1938.)

Im Verlauf von Arbeiten, die anderen Zielen dienten, erwies es sich als notwendig, die volumetrischen Antworten der Leber bei den Kreislaufreflexen, im besonderen bei der Reizung depressorischer Nerven, näher zu studieren. In der Literatur finden sich folgende Angaben:

Gollwitzer-Meier und Schulte[1] fanden bei Belastungsversuchen des Carotissinus keine eindeutigen Veränderungen des Lebervolumens. Heymans, Bouckaert und Dautrebande[2] sahen beim Hunde nach Verschluß der Carotiden eine Volumenabnahme der Leber, die sie auf Konstriktion der Leberarterien bezogen, weil sie nach der Unterbindung der A. hepatica ausblieb; doch war diese Reaktion offensichtlich von druckpassiven Vorgängen überlagert. Jarisch und Henze[3] beobachteten bei der Katze nach Verschluß der Carotiden in der Mehrzahl der Versuche Verkleinerung der Leber; in einigen Versuchen war jedoch die Leberreaktion nicht eindeutig. Ferner nahmen Hering[4] und Heymans[5] zu den Fragen im allgemeinen Stellung.

Meine Versuche wurden am Kaninchen ausgeführt; ich prüfte den Verschluß der Carotiden sowie die Faradisierung des Aortennerven (N. depressor).

Methodisches. Die Kaninchen erhielten zur Narkose 0,6 g Urethan und 0,01 g Morphin. Blutdruckschreibung aus der linken Carotis. Beide Aortennerven wurden durchschnitten und auf Sherrington-Elektroden gelegt. Leberonkometrie nach den Angaben von Jarisch und Henze[3]. Volumenschreibung mit einem geeichten Palmer-Piston. Nach dem Versuch wurden die innerhalb und außerhalb der Onkometerkapsel gelegenen Leberteile gewogen und danach wurde die Volumenzunahme für die ganze Leber berechnet. Es zeigte sich, daß bei den verschiedenen Versuchen zwischen 70 und 100% der (stark gelappten) Kaninchenleber in der Onkometerkapsel Platz gefunden hatten.

[1] Gollwitzer-Meier, Kl., u. H. Schulte: Pflügers Arch. **229**, 264 (1931). — [2] Heymans, C., J. J. Bouckaert u. L. Dautrebande: Arch. intern. de pharmacodyn. **40**, 292 (1931). — [3] Jarisch, A., u. C. Henze: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 30 (1938). — [4] Hering, H. E.: Verh. dtsch. Ges. Kreislaufforschung **6**, 46 (1933). — [5] Heymans, C.: Ebenda **6**, 56 (1933).

Verschiedene Eingriffe.

Bei der intravenösen Infusion von Kochsalzlösung fand sich, ähnlich wie bei der Katze[3], eine Volumenzunahme. Scharfe Volumenabnahmen traten bei der Erstickung und nach blutdrucksteigernden Adrenalindosen ein. Amylnitrit (Abb. 1a) bewirkte ausnahmslos eine Verkleinerung der Leber.

Ausschaltung des Carotissinus.

Zur Ausschaltung beider Carotissinus (Entlastungsreflex) brauchte, da aus der linken Carotis der Blutdruck geschrieben wurde, jeweils nur die rechte Carotis abgeklemmt zu werden. Die Ergebnisse waren wechselnd;

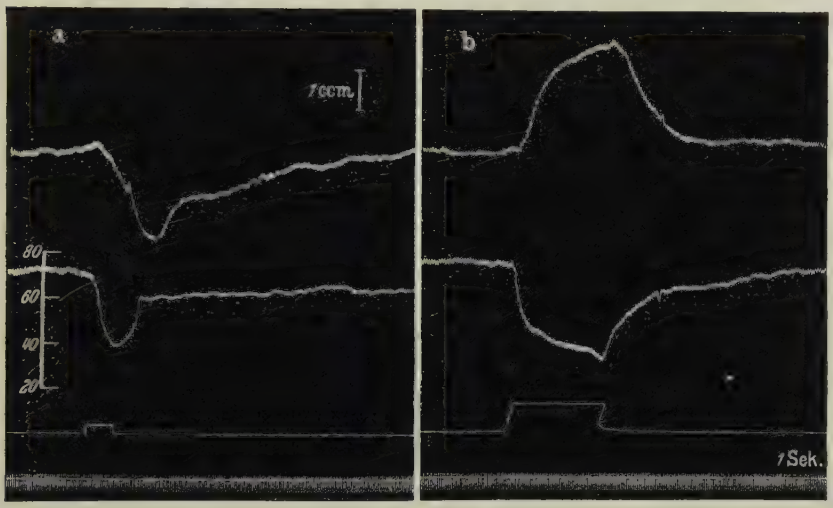


Abb. 1. Kaninchen 2300 g in Morphin-Urethannarkose: Oben Lebervolumen (es lag die ganze Leber in der Onkometerkapsel), unten Blutdruck. *a* Amylnitrit, *b* Reizung des rechten Aortennerven.

teils nahm das Volumen ab, teils nahm es zu. Das ist nicht überraschend, denn es ist das Lebervolumen von zahlreichen Faktoren abhängig. Verkleinernd muß die aktive Konstriktion der intrahepatischen Gefäße wirken, vergrößernd der vermehrte Zustrom von Blut durch die Druckzunahme in der Aorta und in der Pfortader[7].

Reizung der Aortennerven.

Die Reizung der Aortennerven brachte in allen Fällen gleichzeitig mit dem Blutdruckabfall eine energische Volumenzunahme der Leber für die Dauer der Reizung (Abb. 1b); dabei ergab sich zwischen der Wirksamkeit

[7] Gollwitzer-Meier, Kl., u. H. Schulte: Pflügers Arch. **229**, 264 (1931); C. Heymans, J. J. Bouckaert u. L. Dautrebande: Arch. intern. de pharmacodyn. **40**, 292 (1931).

des linken und des rechten Depressors kein merklicher Unterschied, hingegen war die gleichzeitige Reizung beider Depressoren stets deutlich stärker wirksam. So nahm die Leber bei der Reizung nur eines Depressors um 1,2 bis 1,7 ccm zu, das entspricht 1,1 bis 1,6% der nach der Kurve von Dreyer und Ray[8] berechneten Gesamtblutmenge der Tiere und bei der beiderseitigen Faradisierung von 2,6 bis 3,7 ccm, das ist 2,2 bis 3,1 %.

Was den Mechanismus dieser Leberschwellung anlangt, so kann zunächst einmal ausgeschlossen werden, daß es sich um eine Rückstauung von Blut aus den herznahen Venen infolge der vagalen Herzhemmung bei der Depressorreizung handelt, denn es trat die Volumenzunahme, wie noch berichtet werden soll, auch auf, wenn der Vagus ausgeschaltet war; am vagotomierten Kaninchen fand Winkler[9] bei der Reizung der Aortennerven sogar eine beträchtliche Abnahme des Vorhofdruckes, so daß nach der Vagusausschaltung eher mit einer Begünstigung des Abflusses aus der Leber gerechnet werden kann, zumal es ja beim Kaninchen keine „Lebersperre" gibt. Die Anschwellung der Leber bei der Reizung der Aortennerven muß vielmehr auf einer Erschlaffung der Lebergefäße beruhen, denn erstens nimmt infolge des Sinkens des Aortendruckes der Durchblutungsdruck in der A. hepatica ab, und zweitens sinkt auch der Pfortaderdruck (das lehrten ältere Beobachtungen im hiesigen Institut in Übereinstimmung mit den Angaben von Heymans und seinen Mitarbeitern sowie von Gollwitzer-Meier und Schulte über das Verhalten des Pfortaderdruckes bei den Carotisreflexen).

Wo verläuft die efferente Bahn des Reflexes?

Wie Bayliss[10] fand, läßt bei der Depressorwirkung der Tonus der Vasokonstriktoren nach und gleichzeitig werden die Dilatatoren erregt. Es war also damit zu rechnen, daß möglicherweise parasympathische im Vagus zentrifugal verlaufende Dilatatoren bei der Leberreaktion nach Reizung der Aortennerven eine Rolle spielen. Dies zu prüfen, unterbrach ich die nervöse Leitung im Halsvagus reversibel durch Abkühlen nach den Angaben von Henze[11]. Es zeigte sich jedoch, daß die Vagusausschaltung keinerlei Einfluß auf die Volumenreaktion der Leber hatte. Es machte gar nichts aus, wenn erst die Vagi ausgeschaltet und dann die Aortennerven gereizt wurden, oder wenn umgekehrt während der Reizung der Aortennerven die Vagi ausgeschaltet wurden (Abb. 2). Dieses Ergebnis entspricht ähnlichen Beobachtungen von Jarisch und Henze[3] bei der Mistelwirkung an der Katze und dem Umstand, daß Udinzew[12], Bauer,

[8] Dreyer u. Ray: Zitiert nach Seppä: Scand. Arch. Physiol. **36**, 178 (1918). — [9] Winkler, F.: Beitr. z. exper. Pathol. Wien **1902**, S. 1 und 31. — [10] Bayliss, W. M.: J. of Physiol. (Brit.) **37**, 264 (1908). — [11] Henze, C.: Arch. intern. de pharmacodyn. **53**, 44 (1936). — [12] Udinzew: Die Gefäßmotoren der Leber. Dissertation Kasan 1912.

Dale und Richards[13] sowie Malmejac[14] keinen Einfluß des Vagus auf die Leberzirkulation nachweisen konnten. Somit konnte die Reflexbahn für die Leberreaktion nur über den Sympathicus laufen.

Zur Entscheidung dieser Frage wurden Durchschneidungsversuche am Sympathicus ausgeführt. In einer ersten Versuchsreihe wurde der Plexus hepaticus, d. i. das breite Fasergeflecht, das von dem meist paarigen Gl. coeliacum zur Leber zieht, auf eine Strecke von etwa $1^1/_2$ cm reseziert, wobei die N n. splanchnici teils erhalten blieben, teils mit durchschnitten

Abb. 2. Kaninchen 3300 g in Morphin-Urethannarkose: Oben Lebervolumen (es waren 88 % der Leber in der Onkometerkapsel), unten Blutdruck. Reizung beider Aortennerven; während der Reizung bei *K* Kühlung, bei *W* wieder Erwärmung beider Halsvagi. — Die Ausschaltung des Halsvagus während der Depressorreizung führt wohl zu der bekannten Änderung in der Atmung, die sich in den Atmungsschwankungen der Leberkurve widerspiegeln, beeinflußt jedoch das Volumen der Leber im ganzen nicht.

wurden. Nach 3—4 Wochen, wenn sich die Tiere erholt hatten, wurde der Endversuch angeschlossen. Es zeigte sich, daß die Leberreaktion noch positiv war, d. h. daß bei der Reizung der Aortennerven die Leber noch anschwoll. Das Ausmaß der Reaktion war aber jetzt bedeutend geringer. Während die Volumenzunahme bei intakter Innervation der Leber in sechs Versuchen im Mittel 3,07 ccm betrug, war sie jetzt bei 19 Versuchen nur mehr 0,69 ccm.

Danach war anzunehmen, daß in diesen Versuchen die Leber noch nicht vollkommen entnervt war. Ich ging deshalb dazu über, das in Rede stehende Gebiet vollständig zu desympathisieren; es wurden beide Splanchnici knapp unter dem Zwerchfell durchschnitten und die Ganglien des Plexus

[13] Bauer, W., H. H. Dale, L. T. Poulsson u. D. W. Richards: J. of Physiol. **74**, 343 (1932). — [14] Malmejac, J.: Nutrition (Fr.) **7**, 113 (1937).

solaris sowie der Grenzstrang entfernt. Außerdem wurde die A. coeliaca sowie die Pfortader von den sie begleitenden Nervengeflechten anatomisch gereinigt. Nun war der nach Wochen ausgeführte Endversuch negativ, d. h. an Stelle der sonst regelmäßig bei der Reizung der Aortennerven eintretenden Zunahme des Lebervolumens wurde die Leber parallel mit dem fallenden Aortendruck kleiner (Abb. 3). Die Leber verhielt sich also nunmehr völlig druckpassiv, und die Kurve glich jetzt der bei der Drucksenkung nach Amylnitrit (Abb. 1a) erhaltenen.

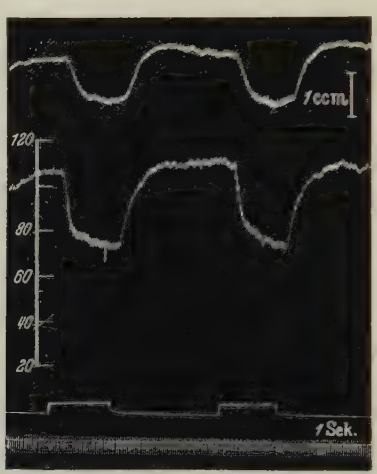


Abb. 3. Kaninchen 3370 g in Morphin-Urethannarkose: Oben Lebervolumen (78% der Leber in der Onkometerkapsel), unten Blutdruck. Reizung beider Aortennerven. Bei diesem Tiere war vor 5 Wochen der Bauchsympathicus entfernt worden; nun reagiert die Leber gerade umgekehrt wie in Abb. 1b und 2.

Besprechung der Ergebnisse.

Es ergibt sich somit, daß die Leber, wie ja schon bekannt war, bei den Gefäßreflexen deutliche vasomotorische Reaktionen zeigt. Beim Verschluß der Carotiden sind die Anzeichen einer Vasokonstriktion vorhanden, doch führt diese nicht regelmäßig zu einem Abschwellen der Leber, sondern es kann unter Umständen auch zu einer Volumenzunahme kommen, die offensichtlich druckpassiv ist. Bei der Reizung der Aortennerven hingegen schwillt die Leber regelmäßig an, und zwar wurden Speicherungen bis zu 3,7 ccm, das ist 3,1 % des Gesamtblutes, beobachtet. Diese Volumenreaktion tritt nach der Ausschaltung des Vagus unverändert ein, unterbleibt hingegen, wenn der Bauchsympathicus entfernt worden ist. Ob es sich dabei um ein Nachlassen des Konstriktorentonus oder um eine Erregung der von Udinzew[12] angekündigten aus dem thorakalen Grenzstrang stammenden Vasodilatatoren handelt oder, was zu erwarten ist, um beides, muß dahingestellt bleiben. Da die Reaktion auch nach der Durchschneidung des Splanchnicus und des Plexus hepaticus noch auftritt, muß der Reflex-

weg über Fasern gehen, die unmittelbar vom Grenzstrang zur Leber ziehen; sie dürften in dem die A. coeliaca begleitenden Fasergeflechte zu suchen sein.

Die hier mitgeteilten Beobachtungen machen es wahrscheinlich, daß die von Francois-Franck und Hallion[15] bei der Reizung des zentralen Vagusstumpfes beobachtete Erschlaffung der Lebergefäße auf einer Mitreizung der depressorischen im Vagus verlaufenden Nerven beruhten.

Zusammenfassung.

Beim Verschluß der Carotiden tritt beim Kaninchen eine Vasokonstriktion in der Leber auf; die Volumenreaktion wird aber häufig durch druckpassive Vorgänge überlagert.

Bei der Reizung der Aortennerven nimmt das Lebervolumen infolge einer Erschlaffung der Lebergefäße regelmäßig zu; die efferente Bahn des Reflexes geht über den Bauchsympathicus.

---

[15] Francois-Franck, Ch. A., u. L. Hallion: Arch. physiol. norm. path. **8**, 908, 923 (1896); **9**, 434, 448 (1897).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Jena.
(Direktor: Prof. Dr. Labes.)

Über die krampfverstärkende Wirkung unterschwelliger Blausäuredosen bei Brucin, Hydrastin, sowie über die Wirkung von Kombinationen unterschwelliger Blausäuredosen mit Coramin und Veratrin.

Von

H. Bergstermann und **Br. Krauskopf.**

(Eingegangen am 12. September 1938.)

R. Labes[1] hatte gezeigt, daß unterschwellige Dosen Pyramidon, Cardiazol und Strychnin bei männlichen Grasfröschen heftige für die betreffende Substanz charakteristische Krämpfe hervorrufen, wenn sie mit unterschwelligen Blausäuredosen kombiniert werden, die allein noch keinerlei Vergiftungserscheinungen auszulösen vermögen. In weiteren Arbeiten hatte Labes[2] festgestellt, daß stickstoffhaltige Basen mit phenolähnlichen Körpern Additionsverbindungen eingehen, und daß die hier wirksamen Konzentrationen der Stickstoffbasen, umgerechnet auf den Gesamtkörper, auffallend häufig gerade den pharmakologisch wirksamen Konzentrationen entsprechen. In diesem Zusammenhang wirft er die Frage auf, ob nicht die pharmakologische Wirksamkeit der Alkaloide so zu erklären ist, daß sie im Körper phenolähnlich reagierende als Atmungs-Co-Fermente fungierende Stoffe nach Art der Phenolbasenreaktion beschlagnahmen. Diese Annahme macht verständlich, daß andere in den Atemmechanismus eingreifende Gifte, in diesem Falle die Blausäure, das Vergiftungsbild der betreffenden Stickstoffbasen verstärken bzw. bei Anwendung unterschwelliger Dosen das Vergiftungsbild trotzdem noch auszulösen vermögen. Es ist dies natürlich nicht die einzige Deutungsmöglichkeit. Da die bisher untersuchten Stoffe ihre Wirkung über das Zentralnervensystem entfalten, könnte man sich vorstellen, daß durch die Applikation unterschwelliger Blausäuredosen irgendwelche Hemmungsmechanismen ausgeschaltet werden, die ohne Blausäureanwendung die Krampfauslösung unterschwelliger Dosen der Stickstoffbasen noch zu kompensieren vermögen.

Um einen besseren Einblick in den Mechanismus der verstärkenden Wirkung der Blausäure zu gewinnen, prüften wir bei vier weiteren Stickstoffbasen, inwieweit sich ihre Wirksamkeit durch Zuführung unterschwelliger Blausäuredosen steigern läßt. In dieser Richtung untersuchten wir das

[1] Labes, R. (mit Wedell, Lippross, Soehring u. Bergstermann): Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 125, 379, 513. — [2] Labes, R. (mit Breitenstein, Wedell, Lü u. Bergstermann): Ebenda **174**, 255; **175**, 382; **182**, 249; **187**, 389; Biochem. Z. **286**, 232.

Brucin, das Hydrastin, das Coramin und das Veratrin. Beim Brucin und beim Hydrastin war wegen ihres strychninähnlichen Verhaltens und ihres vorwiegend zentralen Angriffspunktes ein ähnliches Verhalten zu erwarten, wie es bei den von Labes beschriebenen Stoffen in Erscheinung tritt. Beim Coramin war damit zu rechnen, daß die stark lähmende Komponente in ihrem Vergiftungsbild Störungen hervorrufen könnte. Beim Veratrin war es interessant, ob sich die Wirkung des Veratrins auf die quergestreifte Muskulatur, die die zentrale Wirkung fast vollkommen überdeckt, ebenfalls durch unterschwellige Blausäuregaben verstärken ließ.

Versuche*.

Die Versuchsanordnung war die gleiche, wie sie bereits von Labes (l. c.) in den vorangegangenen Mitteilungen beschrieben ist. Wiederum benutzten wir männliche Grasfrösche und rechneten die angewandten Dosen auf 40 g Froschgewicht um. Das gleichmäßigste Versuchsbild erhielten wir, wenn wir Frösche von 30 bis etwa 35 g benutzten. Besonders Frösche über 45 g zeigten ein viel unregelmäßigeres Verhalten. Die hier wiedergegebenen Versuchsprotokolle beziehen sich deshalb im wesentlichen auf Frösche mit einem Durchschnittsgewicht von 30—35 g. Die Blausäure injizierten wir in den Schenkellymphsack, während wir die Stickstoffbase grundsätzlich in den Bauchlymphsack injizierten, um nicht durch lokale Reizwirkungen das Vergiftungsbild zu ändern oder zu verwischen. Die Blausäurelösung stellten wir in gleicher Weise her, wie wir es in früheren Mitteilungen beschrieben (l. c.) haben.

In einer Cyannatriumlösung wurde durch Zugabe einer fast äquimolaren Menge HCl die Blausäure in Freiheit gesetzt und lediglich ein kleiner Rest durch primäres Natriumphosphat in Blausäure übergeführt.

Bei der Beobachtung der Blausäurekontrollen fiel auf, daß die in der ersten Mitteilung beschriebenen heftigen Krampfbilder, die damals bei Anwendung mittlerer Blausäuredosen fast regelmäßig auftraten, diesmal meist wesentlich schwächer ausfielen. Während im vorigen Jahre die Frösche bei Anwendung mittlerer Dosen (0,5—0,75 ccm eines 0,15%igen Blausäureneutralgemisches) fast regelmäßig nach einigen Stunden mit blitzschnellen Laufkrämpfen reagierten, traten bei den diesjährigen Versuchen die Laufkrämpfe nur in wesentlich abgeschwächter Form in Erscheinung. Nicht selten ließen diese Dosen gar keine Schäden erkennen oder führten zu leichten Lähmungserscheinungen und einer Dunkelfärbung der Haut.

A. Brucin.

Wegen der Ähnlichkeit des Brucinkrampfbildes mit Strychnin sollen zunächst die Brucinversuche wiedergegeben werden. Zur Herstellung

---

* Die Versuche wurden in den Wintermonaten Oktober bis Februar durchgeführt.

unserer Lösung benutzten wir zunächst das Brucin hydrochl. von der Fa. Schuchardt. Um sicher zu sein, daß die Versuchsergebnisse nicht durch Verunreinigung mit Strychnin vorgetäuscht wurden, verwandten wir für unsere Hauptversuche das Brucin cryst. für analytische Zwecke ebenfalls von der Fa. Schuchardt und stellten daraus eine $^1/_2\,^0/_0$ige Lösung des Brucin hydrochl. in folgender Weise her: Zu 2 g Brucin cryst. wurden 4,3 ccm norm. Salzsäure gegeben und das Ganze auf 400 ccm aufgefüllt.

Im Durchschnitt lag die Schwellendosis bei den zuerst verwandten Lösungen aus Brucin hydrochl. etwas niedriger als bei den Lösungen aus Brucin cryst. für analytische Zwecke. Die folgenden Daten stützen sich im wesentlichen auf die mit dem reinsten Brucinpräparat gewonnenen Versuchsergebnisse.

Als Schwellendosis für typische strychninartige Krämpfe fanden wir etwa 0,6 ccm einer $2\,^0/_{00}$igen Lösung. Bei 0,4 ccm war meist eine deutliche Übererregbarkeit zu beobachten, während bei Anwendung von 0,6 ccm schon recht kräftige ausfahrende Bewegungen, aber noch keine voll ausgebildeten strychninartigen Krämpfe in Erscheinung traten. Als halbe Schwellendosis für unsere Kombinationsversuche nahmen wir dementsprechend 0,6—0,7 ccm einer $1\,^0/_{00}$igen Brucinlösung an. Diese Dosis bewirkte meist nur eine geringe Übererregbarkeit, während es bei Anwendung der gleichen Brucindosis im Verein mit 0,25—0,3 ccm eines 0,15 %igen Blausäureneutralgemisches in der Regel zu schweren und lang anhaltenden typischen strychninartigen Krämpfen kam. Es ist jedoch zu bemerken, daß auch hier, ähnlich wie beim Strychnin, Schwankungen vorkommen, die hier vielleicht ebenso wie beim Strychnin darauf beruhen, daß es bei einer Verschiebung der Froschblutreaktion in saurem Sinne zu einer Veränderung des Basensalzverhältnisses zugunsten des schlechter permeierenden Brucinsalzes kommt. Um die Deutung auszuschließen, die krampfsteigernde Wirkung der Blausäure beruhe auf Permeabilitätsstörungen, haben wir die Blausäurezugabe wiederum zeitlich variiert. Dabei zeigte sich, daß die Blausäure noch 4 Stunden nach der Bruceninjektion ihre volle Wirksamkeit entfaltet, während eine Blausäuregabe 2 Stunden vor der Bruceninjektion zwar auch noch deutlich krampfsteigernd wirkt, aber anscheinend schwächer wirksam ist als die nach der Bruceninjektion zugeführte Blausäuredosis. Zur Veranschaulichung der Verhältnisse geben wir einen kurzen Auszug aus den Versuchsprotokollen vom 11. Februar wieder.

Allen Fröschen wurde 1 ccm einer $0{,}7\,^0/_{00}$igen Brucinlösung in den Bauchlymphsack injiziert. Von den sechs Kontrollen K_1 bis K_6 reagierten fünf Frösche entweder gar nicht oder zeigten eine geringe Übererregbarkeit. K_4 (von braungelber Farbe) machte auf Erschütterungen der Unterlage heftige ausfahrende Bewegungen, zeigte aber noch keine typischen strychninkrampfähnlichen Streckstöße. Drei Frösche (A_1 bis A_3), denen im Anschluß an die Bruceninjektion 0,25 ccm einer 0,15 %igen Blausäurelösung in den Schenkellymphsack injiziert wurden, zeigten nach etwa 2 Stunden spontan oder auf Erschütterung der Unterlage heftige Streckkrämpfe. Nach diesen Streckkrämpfen blieben sie oft lange Zeit in Streckstellung. Sie lagen

dabei mit verschränkten Armen auf dem Bauch oder auf dem Rücken. Die Krämpfe wurden über 6 Stunden lang beobachtet. Am anderern Morgen zeigten die Frösche normales Verhalten.

Drei Frösche (B_1 bis B_3) erhielten die Blausäuredosis etwa 2 Stunden nach der Brucininjektion. Die Frösche, die bis zu der Blausäuregabe ein vollkommen normales Bild geboten hatten, wurden eine viertel Stunde nach Blausäureinjektion erregter und boten nach etwa $1^1/_2$—2 Stunden etwa das gleiche Bild, wie die Frösche, denen die Blausäure gleich nach der Brucingabe verabreicht worden war.

Drei Frösche (C_1 bis C_3) erhielten 4 Stunden nach der Brucingabe 0,3 ccm unserer Blausäurelösung, also eine Dosis, die etwas über der bisher verwandten Dosis liegt, aber nach unserer Erfahrung immer noch etwa der Hälfte der Schwellendosis entspricht. Schon eine viertel Stunde nach der Blausäureinjektion traten auf Erschütterung der Unterlage heftige ausfahrende Bewegungen auf. Nach 1 bis 2 Stunden zeigten alle Tiere schwere Streckkrämpfe, die nach einiger Zeit in Dauerstreckkrampfstellung übergingen. Entsprechend der etwas höheren Blausäuredosis zeigten diese Frösche das bei weitem schwerste Krampfbild.

Damit ist unwahrscheinlich gemacht, daß die Blausäurewirkung lediglich auf einer Veränderung der Permeabilitätsverhältnisse beruht, denn man muß annehmen, daß nach 4 Stunden längst eine weitgehende Resorption der Brucinlösung eingetreten ist.

Drei weiteren Fröschen (D_1 bis D_3) wurden die 0,25 ccm Blausäure bereits 2 Stunden vor der Brucinlösung injiziert. 2 Stunden nach der Brucininjektion geraten die Tiere in einen Übererregbarkeitszustand, der in den nächsten Stunden an Heftigkeit zunimmt. 4 Stunden nach der Brucininjektion zeigt D_3 auf Erschütterung der Unterlage einige typische strychninartige Streckstöße. Bei dieser Versuchsanordnung ist die verstärkende Wirkung der Blausäure zwar ebenfalls unverkennbar, tritt aber bei weitem nicht so deutlich hervor, wie bei jenen Fröschen, denen die Blausäure gleichzeitig mit der Brucinlösung oder einige Stunden nachher gegeben worden ist.

An diesem Versuchstage war nur bei einem Kombinationsfrosch eine auffällige Dunkelfärbung zu verzeichnen. Bei anderen Versuchsserien zeigte ein größerer Prozentsatz der Kombinationsfrösche eine auffallende Dunkelfärbung, die bei Brucinverabreichung allein nie beobachtet wurde. Irgendeine Gesetzmäßigkeit für diese Erscheinung ließ sich nicht aufstellen.

In diesem Zusammenhange interessierte uns auch, wie eine Blausäurekombination die nervenendplattenlähmende Wirkung des Brucins beeinflußt.

Vier Frösche (E_1 bis E_4) erhielten 0,8 ccm einer $2\,^0/_{00}$igen Brucinlösung. E_3 und E_4 erhielten außerdem 0,25 ccm des 0,15%igen Blausäureneutralgemisches. E_1 und E_2 zeigten stundenlang sich wiederholende heftige strychninartige Krämpfe. E_3 und E_4 gingen nach anfänglich heftigen Strychninkrämpfen in eine schlaffe Dauerstreckstellung über. Auf starke Erschütterung der Unterlage reagierten sie teils gar nicht mehr, teils traten nach längerer Ruhepause schwache Zuckungen der Muskulatur oder schwache Streckstöße auf, die sich aber sehr bald erschöpften, also ein „Stadium einer leichten Erschöpfbarkeit bei erhaltener Reizbarkeit" zeigten, das nach Böhm[3] und Santesson[4] der definitiven Lähmung der Nervenendplatten vorausgeht. Daß es sich bei den Kombinationsfröschen um einen reinen Erschöpfungszustand handelt, ist deswegen unwahrscheinlich, weil die Krämpfe bei den Kombinationsfröschen von vornherein viel schwächer waren.

[3] Böhm, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **35**, 16 (1895). — [4] Santesson, C. G.: Ebenda **35**, 57 (1895).

B. Versuche mit Hydrastin.

Zur Herstellung unserer Lösung benutzten wir das Hydrastin hydrochl. der Fa. Schuchardt. Wir stellten uns hieraus eine 1%ige Lösung her, die wir nach Bedarf verdünnten. Injizierten wir ein halbes ccm einer $^1/_2$%igen Lösung Hydrastin hydr. ein, so wurden die Frösche nach etwa einer viertel bis einer Stunde etwas schreckhaft und spreizig. Die Bewegungen wurden steif und langsam. Manchmal, aber nur ganz im Anfang der Vergiftungserscheinungen, zeigten die Tiere steife, langsame alternierende Laufbewegungen von fast veratrinähnlichem Charakter. Dabei wurde der Körper vom Boden abgestemmt, die Arme und Beine wurden breit und steif vom Körper abgehalten. Nicht selten fiel der Frosch dabei auf die Seite, richtete sich mühsam wieder auf und nahm dann wieder eine fast normale Sitzhaltung ein. Zu dieser Zeit reagierte der Frosch auf Erschütterungen der Unterlage höchstens mit einem leichten Spreizen der Zehen oder mit einer schwachen ausfahrenden Bewegung. Nach einer halben bis zwei Stunden, manchmal auch noch später, traten dann die ersten Krämpfe auf. Man hatte den Eindruck, daß der Frosch zunächst noch vergeblich versuchte, die Krämpfe zu unterdrücken. Daraus resultierten teils krampfhafte Strampelbewegungen, teils simultane oder alternierende Spreizkrämpfe, die auf Erschütterung der Unterlage, aber auch scheinbar spontan auftraten. Manchmal wurden während der Krämpfe laute Schreie ausgestoßen. Allmählich nahmen die Krämpfe jedoch immer mehr strychninähnlichen Charakter an. Die Frösche reagierten auf jeden Reiz mit einer Reihe von Streckstößen. Im Verlauf der Krämpfe erschien die Haut oft auffallend trocken und gekörnt. Veränderungen der Farbe waren wenig charakteristisch. Nicht selten trat eine beträchtliche Dunkelfärbung auf.

Die Schwellendosis wies beim Hydrastin noch größere Schwankungen auf als beim Strychnin und Brucin. Auch beim Hydrastin vermag eine unterschwellige Blausäuredosis die Hydrastinkrämpfe zu verstärken und bei einer Hydrastindosis Krämpfe hervorzurufen, die ohne Blausäurekombination noch keinerlei Vergiftungssymptome hervorruft. Ein Protokollauszug aus einer Versuchsserie vom 18. Februar 1938 soll die Versuchsanordnung erläutern.

Der Versuch wurde in zwei Reihen A und B angesetzt. Die Frösche der Reihe A erhielten 0,5 ccm, die Frösche der Reihe B 0,6 ccm einer 2‰igen Hydrastin-HCl-Lösung. Die Frösche 1 und 2 einer jeden Reihe dienten als Kontrollen und erhielten keine Blausäure, die Frösche 3 und 4 erhielten 2 Stunden nach der Hydrastininjektion 0,25 ccm unseres 0,15%igen Blausäureneutralgemisches. Den Fröschen 5 und 6 wurde die Blausäure gleich nach der Hydrastingabe injiziert.

Die vier Hydrastinkontrollfrösche zeigten keinerlei Veränderung in ihrem Verhalten. Die Frösche 3 und 4 zeigten in der Reihe A ebenfalls keine Besonderheiten, während in der Reihe B bei 3 etwa 1 Stunde nach der Blausäuregabe eine deutliche Übererregbarkeit eintrat, die mehrere Stunden anhielt. Bei B_4 traten 1 Stunde nach der Blausäureinjektion auf Erschütterung der Unterlage kräftige Streckkrämpfe auf. Im Anschluß daran blieb der Frosch stundenlang in schlaffer

emprosthotonischer Bauchlage in Dauerstreckstellung liegen und reagierte auf jeden Reiz mit weiteren Streckstößen. Er verfärbte sich dabei tiefschwarz. Die Frösche 5 und 6 aus jeder Versuchsreihe zeigten nach $^1/_2$ bis spätestens $1^1/_2$ Stunden alle schwere Streckkrämpfe mit Dauerstreckstellung. Dabei zeigten A_5, B_5 und B_6 starke Dunkelfärbung, während sich bei A_6 die Farbe nicht wesentlich veränderte.

Wenn sich auch diese Versuchsergebnisse beim Hydrastin nicht immer in so eindeutiger Form reproduzieren ließen, da die Schwellendosis des Hydrastins, wie wir schon oben andeuten, zu recht beträchtlichen Schwankungen neigt, so ließ sich doch in einer großen Zahl durchgeführter Versuche die krampfsteigernde Wirkung der Blausäure einwandfrei nachweisen. Allerdings führte eine 2 Stunden nach der Hydrastininjektion zugeführte Blausäuredosis schon zu einer geringeren krampfsteigernden Wirkung, als wenn die Blausäure sofort nach der Hydrastingabe zugeführt wurde.

C. Coraminversuche.

Das Coramin vermag, wie wir in einigen Vorversuchen feststellten, ebenso wie das Cardiazol phenolartige Stoffe zu beschlagnahmen. Da das Coramin in klinischer Hinsicht mancherlei Ähnlichkeit mit dem Cardiazol aufweist, schien es uns interessant zu prüfen, wie unterschwellige Blausäuredosen das Symptombild des Coramins verändern. Zu unseren Versuchen verwandten wir Verdünnungen der zu klinischem Gebrauch in den Handel gebrachten 20%igen Coraminlösung Ciba.

Bei den Kombinationsversuchen mit Blausäure war die Analyse des Vergiftungsbildes dadurch besonders erschwert, daß beide Stoffe weitgehend ähnliche Vergiftungserscheinungen aufweisen. Wir beschreiben zunächst die mit Coramin allein durchgeführten Versuche.

Bei einer niedrigen Coramindosis, etwa bei 0,5 ccm einer 2%igen Coraminlösung, zeigten die Frösche oft eine an Blausäurevergiftung erinnernde Duckhaltung, die von einzelnen Attacken schneller Sprungbewegungen unterbrochen wurde. Der krampfartige Charakter dieser von uns als Sprungattacke bezeichneten Bewegungen zeigte sich darin, daß es kaum zu einer Fortbewegung kam. Oft nahm die Farbe nach einigen Stunden einen dunkleren Farbton an, die Atmung wurde unregelmäßig. Auf Perioden lebhafter Kehldeckelatmung folgten Perioden anscheinend völlig sistierender Atmung. Das Auftreten von Sprungattacken dauerte einige Stunden an. Nach etwa 6–8 Stunden zeigten die Frösche in der Regel wieder ein vollkommen normales Verhalten.

Bei Anwendung von größeren Dosen Coramin — etwa von 0,8 ccm einer 2%igen Lösung an — traten nach 1—2 Stunden simultane oder auch alternierende langsame krampfhafte Spreiz-, Stemm- oder Streckbewegungen auf, dabei wurden oft laute Schreie ausgestoßen. Manchmal traten an Stelle der langsamen Bewegungen schnelle Strampelbewegungen auf, die ebenfalls oft mit Schreien oder Quaken verbunden waren. In der Zwischenzeit nahmen die Frösche eine flache, schlaffe Bauchlage ein,

seltener richteten sie sich steil auf, wobei der Kopf eine leicht gedrehte Haltung einnahm. (Diese von uns als kataton bezeichnete Haltung kann man auch bei reinen Blausäurefröschen immer wieder beobachten.) Nach einigen Stunden gingen die Frösche immer mehr in eine flache geduckte Bauchlage über, wobei die vorderen Extremitäten oft wie schützend vor den flach auf den Teller gepreßten Kopf gehalten wurden. Von Zeit zu Zeit traten immer wieder Sprungattacken auf, die sich häufig auch durch Erschütterungen der Unterlage auslösen ließen. Neben den Sprungattacken zeigten die Coraminfrösche auch alternierende Strampelbewegungen, während Drehungen um die Dorsoventralachse, schnelle Laufbewegungen und kurze Rückwärtsbewegungen, wie sie für Blausäure charakteristisch sind, nur seltener beobachtet wurden. Die Farbe dunkelte nach einigen Stunden in einem hohen Prozentsatz stark nach, so daß die Frösche nach 6—8 Stunden oft tiefdunkel aussahen. Die Dunkelfärbung hielt oft noch am anderen Tage an. Auch dann zeigten die Frösche oft noch eine geduckte Haltung, die von Zeit zu Zeit von Sprungattacken unterbrochen wurde.

Noch höhere Coramindosen, beispielsweise 1 ccm einer 4%igen Coraminlösung, führten zu einem ähnlichen, aber schwereren Vergiftungsbild. Jedoch traten hier nach einigen Stunden Lähmungserscheinungen auf. Auf den Rücken gelegt, vermochten sich die Frösche z. B. nicht mehr mit eigener Kraft in die normale Sitzhaltung zu bringen.

In Kombinationsversuchen mit unterschwelligen Dosen Blausäure trat eine eindeutige krampfsteigernde Wirkung in der Form, wie wir sie beim Cardiazol beobachten konnten, nicht in Erscheinung. Waren unterschwellige Coramindosen gegeben worden, so zeigten in der Regel auch die Kombinationsfrösche kein von der Norm abweichendes Verhalten. Frösche, die mit Schwellendosen oder überschwelligen Dosen von Coramin behandelt worden waren, zeigten, wenn sie außerdem noch unterschwellige Blausäuredosen erhielten, unverkennbare Unterschiede gegenüber den Kontrollen. Vor allen Dingen schienen die als kataton bezeichneten Haltungen etwas ausgesprochener zu sein als bei den Kontrollen. Zur Charakterisierung der Verhältnisse geben wir einen Protokollauszug von einer Coramin-Blausäureversuchsserie vom 18. Januar 1938 wieder.

Der Versuch wurde in zwei Serien A und B durchgeführt. Die Frösche der Serie A bekamen 0,8 ccm einer 2%igen Coraminlösung, während in Serie B jedem Frosch 0,6 ccm 2%ige Coraminlösung verabreicht wurden. Die Frösche 1—3 jeder Versuchsserie dienten als Kontrollen, während die Frösche 4—6 außerdem gleichzeitig als unterschwellige Blausäuredosis 0,25 ccm eines 0,15%igen Blausäureneutralgemisches erhielten.

Die Frösche A_1—A_3 nahmen nach etwa 1 Stunde eine geduckte Haltung an. Diese Duckhaltung wird von Zeit zu Zeit von lebhaften Sprungfolgen unterbrochen. Diese Sprungfolgen ließen sich mit einer gewissen Regelmäßigkeit bei allen drei Fröschen durch Erschütterung der Unterlage auslösen. Nach etwa 3 Stunden trat bei allen drei Tieren eine mäßig starke Dunkelfärbung auf. Die Kombinationsfrösche A_4—A_6 zeigten zunächst ebenfalls eine gewisse Übererregbarkeit mit lebhaften Sprungfolgen. Diese Sprungfolgen wichen aber bald langsameren Strampel-

bewegungen, die sich nicht mit gleicher Regelmäßigkeit wie bei den Kontrollfröschen durch Erschütterung der Unterlage auslösen ließen. Die Haltung wurde flacher, geblähter und geduckter, der Kopf wurde flach auf den Teller gepreßt und ruhte zwischen den vorderen Extremitäten. Nach 1—$1^1/_2$ Stunden traten bei A_4 und A_5 Spreizkrämpfe auf. Die Beine wurden mit gespreizten Schwimmhäuten langsam in eine Seitwärtsstellung gebracht. Diese Krämpfe wiederholten sich mehrmals hintereinander. Nach einigen Stunden wurden die Tiere tiefschwarz. A_5 und A_6 zeigten am anderen Morgen noch eine geringe Duckhaltung und eine leichte Unruhe.

Die Frösche 1—3 der Serie B zeigten nach etwa 1 Stunde ebenfalls eine leichte Unruhe mit hastigen Sprüngen und erregten Sprungfolgen, die auf äußere Reize jedoch nicht so regelmäßig auszulösen waren wie in der Serie A. Nach einigen Stunden wurden alle drei Frösche wesentlich dunkler, A_2 wurde fast schwarz. Die Kombinationsfrösche B_4—B_6 zeigten nach etwa 1 Stunde eine stärkere Unruhe, die sich in hastigen Sprungfolgen äußerte. Die Farbe wurde schon nach 1 Stunde dunkler. Nach $1^1/_2$ Stunden zeigten alle drei Frösche etwa folgendes Krampfbild: Die vorderen Extremitäten wurden breit und verkrampft vom Körper abgestemmt. Plötzlich stießen die Frösche laute Schreie aus und machten heftige verkrampfte Streckstöße und -sprünge. Die Krämpfe endeten in der Regel mit schnellen alternierenden Strampelbewegungen. Diese Krämpfe wiederholten sich 2—3mal im Abstande von etwa $^1/_2$ Stunde. Bei B_6 trat auch der bei 0,8 ccm Coraminlösung bei A_4 und A_5 beobachtete Spreizkrampf auf. In der Zwischenzeit waren bei den Kombinationsfröschen immer wieder alternierende Strampelbewegungen zu beobachten. Außerdem schienen sie geblähter und geduckter als die Coraminkontrollfrösche 1—3. Diese geduckten Haltungen wechselten ab mit steil aufgerichteten kataton anmutenden Körperhaltungen, wie sie besonders bei der Schilderung der Blausäurekrämpfe (Labes l. c.) beschrieben sind. Am Morgen des nächsten Tages erschienen alle Frösche A und B normal. Nur gegen Mittag wurde bei A_5 eine heftige, etwa $^1/_2$ Minute anhaltende Sprungattacke mit lautem Schreien beobachtet. Dieser Frosch zeigte dann auch noch hoch aufgerichtete katatone Sitzhaltung mit starrer, manchmal etwas schiefer Kopfhaltung.

Zusammenfassend kann man die Ergebnisse der Coramin-Blausäureversuche etwa auf folgende Formel bringen:

Unterschwellige Coramindosen zeigen auch in Kombination mit unterschwelligen Blausäuredosen keine Krämpfe.

Mittlere Dosen führen zu einem schwereren Vergiftungsbild, wenn sie mit unterschwelligen Blausäuredosen kombiniert werden. Statt der Erregbarkeit und der unruhigen hastigen Sprungfolgen überwiegen bei Kombinationsfröschen alternierende Strampelbewegungen. Außerdem nehmen sie häufiger als bei Coramininjektionen allein katatone Haltungen an. Nach einigen Stunden sind sie schlaffer, geblähter und meist auch dunkler als ohne Blausäureanwendung. Es häufen sich also eine Reihe vom Symptomen, die besonders deutlich bei der reinen Blausäurevergiftung in Erscheinung treten. Außerdem finden wir bei den Kombinationsfröschen mit einer gewissen Regelmäßigkeit langsame und langanhaltende krampfhafte Spreiz-, Stemm- und Streckbewegungen, die ohne Blausäuregaben gewöhnlich erst bei Anwendung viel höherer Coramindosen in Erscheinung treten, die wir aber auch bei Blausäurevergiftung nicht so selten zu sehen bekommen.

Bei Anwendung höherer Coramindosen gehen die Kombinationsfrösche schneller in ein Lähmungsstadium über als die reinen Coramin-

frösche. Es muß immer wieder betont werden, daß die Unterschiede zwischen reinen Coraminfröschen und Kombinationsfröschen bei weitem nicht den Grad erreichen, wie wir ihn in den bisherigen Blausäure-Kombinationsversuchen zu sehen gewohnt sind, und daß Coramin- und Blausäurekrampfbilder weitgehend ähnlich sind.

D. Versuche mit Veratrin.

Bei unseren Versuchen verwendeten wir das Veratrin hydrochl. der Fa. Merck. Als minimale wirksame Dosis gibt W. Straub beim Frosch 0,0075 mg Veratrin an[5]. Wir fanden als untere Schwellendosis, umgerechnet auf 40 g Froschgewicht, 0,5 ccm einer $^1/_{80000}$ verdünnten Veratrinlösung, das ist etwa 0,0063 mg Veratrin, ein Wert, der mit dem von Straub angegebenen Wert gut übereinstimmt. Das Vergiftungsbild entspricht völlig der Schilderung, wie sie von R. Böhm in Heffters Handbuch der experimentellen Pharmakologie gegeben wird. In diesen Versuchen war nie eine Beeinflussung des Vergiftungsbildes durch Blausäure zu beobachten. Man darf daraus wohl den Schluß ziehen, daß es sich bei der Veratrinvergiftung um einen Wirkungsmechanismus handelt, der sich von dem der bisher untersuchten Krampfgifte grundsätzlich unterscheidet.

Zusammenfassung.

Bei Kombination von unterschwelligen Dosen verschiedener Krampfgifte mit unterschwelligen Blausäuregaben lassen sich bei einer Reihe von Krampfgiften noch für die betreffende Substanz typische Krämpfe auslösen. In dieser Arbeit wurde untersucht, ob sich das Vergiftungsbild von Brucin, Hydrastin, Coramin und Veratrin durch Kombination mit unterschwelligen Blausäuredosen verstärken oder abändern läßt. Bei Kombination von unterschwelligen Brucingaben mit unterschwelligen Blausäuredosen ließen sich heftige strychninartige Krämpfe auslösen. Bei Anwendung höherer Dosen Brucin zeigte sich, daß sich auch die lähmende Wirkung des Brucin auf die motorischen Nervenendplatten durch Kombination mit unterschwelligen Blausäuredosen verstärken läßt. Auch beim Hydrastin führte die Kombination unterschwelliger Mengen mit unterschwelligen Blausäuredosen zur Auslösung typischer Hydrastinkrämpfe. Bei Anwendung unterschwelliger Mengen Coramin und Blausäure ließ sich die krampfverstärkende Wirkung der Blausäure nicht nachweisen. Höhere Coramingaben führten in Blausäurekombinationsversuchen zu einem schwereren Vergiftungsbild. Die Vergiftungserscheinungen beider Substanzen weisen weitgehende Ähnlichkeit auf, so daß eine Trennung der beiden Vergiftungsbilder häufig nicht möglich ist. Bei Kombination von Veratrin und Blausäure ließ sich eine gegenseitige Beeinflussung der Gifte nicht nachweisen.

[5] Böhm, R.: Veratrin u. Protoveratrin. Handb. d. exper. Pharmakol.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Jena.
(Direktor: Prof. Dr. med. et phil. Labes.)

Fällungsreaktion zwischen den Pyridinderivaten Picolin, β Picolin und Kollidin mit Phenolderivaten.

Von

H. Bergstermann, P. A. Nöcker und Br. Krauskopf.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 12. September 1938.)

R. Labes[1] vergleicht in seiner letzten Arbeit über Additionsverbindungen zwischen Phenolen und heterocyclischen Stickstoffbasen die verschiedenartige Wirksamkeit eingeführter Substituenten unter besonderer Berücksichtigung der diesen Substituenten innewohnenden Restvalenzen. Er kommt dabei zu dem Ergebnis, daß restvalenzreiche Substituenten wie das Hydroxyl, die Carbamidgruppe oder die Nitrogruppe, die die auf Kohäsionskräften beruhenden Eigenschaften, wie den Schmelz- und Siedepunkt usw., in besonderer Weise beeinflussen, auch bei der Einstellung des Gleichgewichtes zwischen den Additionsverbindungen und ihren Ausgangspartnern Besonderheiten zeigen. Die Einführung restvalenzarmer hydrophober Substituenten hingegen, wie aliphatische und cyclische Kohlenwasserstoffe, Cl-Atome usw. wirken generell in reaktionsverstärkendem Sinne.

Im Anschluß an die Arbeit von Labes soll in der vorliegenden Arbeit über die Reaktionsfähigkeit der drei Methylpyridine α- und β-Picolin sowie Kollidin berichtet werden. Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Versuchsergebnisse sind mehreren an unserem Institut durchgeführten Dissertationsarbeiten entnommen[2].

I. Vorbemerkungen.

Die drei Pyridinderivate bezogen wir als α-Picolin puriss., β-Picolin pur. und Kollidin sym. puriss. von der Firma Schuchardt, Görlitz. Es handelt sich bei allen drei Substanzen um klare Flüssigkeiten. α- und β-Picolin sind mit Wasser mischbar, Kollidin ist etwa 1% löslich.

Da eine Herabsetzung der Wasserlöslichkeit eines oder beider Partner häufig mit einer Verstärkung der Fällungsreaktion einhergeht, interessierte uns, ob sich beim Pyridin und den beiden Picolinen, die ja mit Wasser

[1] Labes, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 421 (1938); Labes u. Mitarbeiter: Ebenda **174**, 255; **175**, 382; **182**, 249; **187**, 389; Labes u. Lü: Biochem. Z. **286**, 232. — [2] Kleuker, E., H. Zschirpe, H. Schrader, E. Schnicke: Dissertationsschriften, Jena 1938.

mischbar sind, hinsichtlich des Grades ihrer Hydrophilie Unterschiede ergeben würden. Um den Aussalzeffekt mit konzentrierter Salzlösung zu untersuchen, versetzten wir 1 ccm der Base mit 1 ccm einer 25%igen Kochsalzlösung. Es trat keine vollständige Mischung der beiden Stoffe ein, sondern die wässerige Phase setzte sich gegen die darüber schwimmende Basenphase ab. Während nun bei den Picolinen nur eine unwesentliche Vermehrung der Picolinphase auf Kosten der wässerigen Phase eintrat, betrug dieses Verhältnis beim Pyridin 1,4 ccm zu 0,6 ccm der wässerigen Phase. Nach Zusatz von 0,4 ccm Aqua dest. trat beim Pyridin vollständige Mischung ein. α-Picolin löste sich nach Zugabe von 2 ccm Aqua dest., während beim β-Picolin bis zur vollständigen Lösung 5 ccm Aqua dest. erforderlich waren. Die Aussalzbarkeit der Basen nimmt also in der Reihenfolge Pyridin < α-Picolin < β-Picolin zu.

In früheren Arbeiten konnte Labes (l. c.) zeigen, daß die Bildung der Additionsverbindungen zwischen Phenolen und Stickstoffbasen meist im Sinne einer unvollständig verlaufenden Reaktion erfolgt und daß bei Aufstellung des Gleichgewichtes nur die undissoziierten Anteile der Partner berücksichtigt werden dürfen. Aus diesem Grunde interessierten uns die Dissoziationsverhältnisse der drei Basen. Wir bestimmten ihre Dissoziationskonstante nach der Indikatormethode von Michaelis. Durch Zugabe von m/1 Salzsäure zu den 1%igen Basenlösungen stellten wir uns Gemische aus Salz und Base im Salz-Basenmolverhältnis 3 : 1 und 1 : 1 her. Die $[H^+]$-Werte dieser Gemische bestimmten wir jeweilig in der Verdünnung 8 : 10, 2 : 10 und 0,5 : 10 mit Nitrophenolindikatoren nach Michaelis. Die Nitrophenolfarbe war unabhängig von der Verdünnung. Ein Indikatorfehler war danach unwahrscheinlich. Aus dieser $[H^+]$ und dem Verhältnis der Salz-Basenmolarität läßt sich die reziproke Dissoziationskonstante *kr* der Basen berechnen.

Es ergaben sich dabei folgende Werte:

α-Picolin $kr = 7{,}6 \cdot 10^{-7}$,
β-Picolin $kr = 6 \cdot 10^{-7}$,
Kollidin $kr = 3 \cdot 10^{-8}$.

Eigenartigerweise waren die $[H^+]$-Werte dieser Gemische bei der $[H^+]$-Bestimmung mit der Wasserstoffelektrode etwas saurer. Die Elektrode stellte sich auch nicht auf eine konstante Potentialdifferenz ein. Es scheint, daß die Basen gegenüber aktivem Wasserstoff empfindlich sind.

Die in unseren Arbeiten verwendeten Phenolderivate sind zum Teil schon in den obenerwähnten Arbeiten beschrieben. Neu haben wir in unsere Versuche einbezogen die drei Methoxyphenole, die drei Oxybenzoesäuremethylester, die drei Oxybenzoesäureäthylester, die drei Oxybenzoesäureamide und die drei Aminophenole, deren charakteristische Eigenschaften, soweit sie uns hier interessieren, kurz geschildert werden sollen.

Der Brenzcatechinmonomethyläther wurde als Guajakol puriss. cryst. D. AP. V. von Schuchardt bezogen. Seine Höchstlöslichkeit in Wasser betrug etwa 1,5%. Die Lösung war klar und farblos.

Der Resorcinmonomethyläther wurde von Schuchardt als braune ölige Flüssigkeit bezogen. Höchstlöslichkeit in Wasser etwa 1,5%. Die 1,5%ige Lösung zeigte noch schwache Opaleszenz, die nach Filtrieren verschwand. Nach Reinigung des Präparates durch Vakuumdestillation waren das Präparat selbst und seine Lösungen klar und farblos.

Der Hydrochinonmonomethyläther der Firma Schuchardt besteht aus leicht rötlichen Kristallen. Er ist etwa 2% löslich. Das Präparat wurde durch mehrfaches Umkristallisieren aus Wasser unter Zusatz von Tierkohle gereinigt. Nach der Reinigung sahen die feinen Kristallplättchen rein weiß aus.

Als Orthooxybenzoesäuremethylester benutzten wir das farblose flüssige Präparat Methylium salicylic. D. A. B. 6 von Schering. Es ist in Wasser 0,07% löslich.

Der Metaoxybenzoesäuremethylester wurde in folgender Weise hergestellt: In die methylalkoholische Lösung der Metaoxybenzoesäure (1 Teil in 3 Teile Lösungsmittel) leitet man solange Salzsäuregas ein, bis die Gewichtszunahme 10% des Lösungsmittels beträgt. Nach Zusatz von einigen ccm Schwefelsäure und einstündigem Erhitzen am Rückflußkühler, läßt man erkalten. Man gießt hierauf die Lösung in Eiswasser und bringt den sich zunächst ölig abscheidenden Ester durch weitere Kühlung zum Kristallisieren. Nach Absaugen und Auswaschen mit Wasser kristallisiert man den Ester aus einem Gemisch von Benzol und Petroläther um. Reinweiße Kristalle. F. 69°. Löslichkeit in Wasser 0,75%.

Der Paraoxybenzoesäuremethylester wurde in analoger Weise hergestellt. Beim Eingießen in das Wasser fiel das p-Derivat sofort kristallinisch aus. Es wurde aus einem Alkohol-Äthergemisch (2 : 1) umkristallisiert. Schöne rein weiße Kristalle von F. 131°. Löslichkeit in Wasser etwa 0,2%.

Der Orthooxybenzoesäureäthylester wurde als Äther salicylicum von Schering bezogen. Das Präparat ist flüssig und farblos. Löslichkeit nur 0,053%. Diese höchstkonzentrierte Lösung zeigte noch eine schwache Opaleszenz. Nach einigen Stunden setzten sich am Boden einige feine Tröpfchen ab.

Der Metaoxybenzoesäureäthylester wurde analog dem Metaoxybenzoesäuremethylester durch Veresterung der äthylalkoholischen Lösung der Metaoxybenzoesäure hergestellt und unter Zusatz von Kohle aus Wasser umkristallisiert. Es bilden sich große Kristallnadeln von F. 72°. Benutzt wurde eine 0,25%ige Lösung, aus der an kalten Tagen einige Kristalle ausfielen, die durch leichtes Erwärmen wieder in Lösung gebracht wurden.

Der Paraoxybenzoesäureäthylester wurde als reinstes Präparat von der Firma Fränkel und Landau bezogen. Es handelte sich um reinweiße staubfeine Kristalle. Die 0,084%ige Lösung fiel an kalten Tagen aus.

Das Orthooxybenzoesäureamid ist als Salicylamid bei der Firma Schering im Handel. (Weißes Kristallpulver, z. T. kleine längliche Kristallplättchen.) Die Löslichkeitsgrenze in Wasser liegt bei 0,25%.

Das Metaoxybenzoesäureamid wurde in folgender Weise hergestellt: Die Lösung von einem Teil Metaoxybenzoesäureäthylester in 35%igem Ammoniak (zwei Teile) wird im Bombenrohr 10 Stunden bis 130° erhitzt. Der Röhreninhalt wird auf dem Wasserbad von überschüssigem Ammoniak befreit und der Rückstand mit Wasser aufgenommen. Die braunrote Lösung wird mit Kohle versetzt und erwärmt. Beim Erkalten des Filtrats kristallisiert das Amid zunächst in rosagefärbten Kristallen aus, die nach nochmaligem Umkristallisieren rein weiß werden. F = 167°. Die 1%ige Lösung erwies sich an kalten Tagen als etwas übersättigt.

Das Paraoxybenzoesäureamid wurde in ähnlicher Weise hergestellt: 10 g Paraoxybenzoesäureäthylester werden mit 35 g 35%igem Ammoniak 10 Stunden im Bombenrohr auf 130° erhitzt. Mehrmaliges Umkristallisieren in wässeriger Lösung unter Zusatz von Tierkohle. Spuren unzersetzten Esters werden mit Chloroform ausgezogen. Das Präparat besteht aus feinen weißen haarähnlichen Kristallen, die bei 100° Kristallwasser abgeben. Es handelt sich um ein Molekül H_2O auf ein Molekül Paraoxybenzoesäureamid. Die 1%ige Lösung war auch hier bei Kälte etwas übersättigt.

Orthoaminophenol wurde von der Firma Schuchardt als Amidophenol (ortho) puriss. bezogen. Es handelte sich um weiße Kristallplättchen, die aus heißem Benzol umkristallisiert wurden. Es kristallisierten feine, sehr leichte, weiße Kristallnadeln von F. 174° aus.

Das Amidophenol (meta) puriss. von Schuchardt bestand aus gelblich weißen feinen Kristallnädelchen. Beim Umkristallisieren aus Toluol unter Zusatz von Tierkohle kristallisierten rein weiße Prismen vom Schmelzpunkt 122—123° aus. Die Wasserlöslichkeit beträgt etwa 3%.

Aminophenol-para puriss. cryst. wurde von der Firma Merck bezogen. Die reinweißen staubfeinen Kristalle benötigten keine weitere Reinigung.

Bei der Herstellung der Ortho- und Paraaminophenollösungen zeigte sich, daß sich diese Substanzen in wässeriger Lösung außerordentlich schnell zersetzen. Es bilden sich braune, wenig wasserlösliche Oxydationsprodukte, die allmählich ausfallen und vielleicht auch in die Fällungsreaktion eingreifen, jedenfalls eine Festlegung der Reaktionsgrenze erschweren. Wir haben versucht, durch Zusatz von Na_2SO_3 die Oxydation dieser beiden Körper zu hemmen. Zusatz von Natriumsulfit allein genügte jedoch nicht, weil die größere Basizität der Lösung nach Natrium-Sulfitzusatz das Redoxpotential der Lösung so stark erhöht, daß auch Natriumsulfit die Oxydation nicht mehr verhindern kann. Durch Zusatz eines Phosphatpuffers $[H^+] = 4 \cdot 10^{-7}$ konnten wir die Basizität soweit vermindern, daß die Zersetzungsgeschwindigkeit der Aminophenole wesentlich herabgesetzt wurde. Erst nach einigen Tagen trat langsam eine Braunfärbung ein.

Den Phosphatpuffer stellten wir uns in folgender Weise her:

44,56 g $Na_2HPO_4 + 2\,H_2O$
ad 1000,0 Aqua dest.
Bez.: mol/4 sekundäres Natriumphosphat.
136 g KH_2PO_4
ad 1000,0 Aqua dest.
Bez.: mol/1 primäres Kaliumphosphat.

Beide Phosphate wurden als Soerensenpräparate von Schering bezogen. Zur Herstellung unseres Phosphatpuffers $[H^+] = 4 \cdot 10^{-7}$ mischten wir gleiche Teile von beiden Phosphatlösungen.

Das Gemisch von

100,0 ccm 4%ige $Na_2SO_3 + 7\,H_2O$-Lösung
100,0 ccm Phosphatpuffer $[H^+] = 4 \cdot 10^{-7}$
ad 1000,0 ccm Aqua dest.

bezeichneten wir zur Abkürzung als Sulfitgemisch. Dieses verwandten wir statt Aqua dest. zur Herstellung der Ortho- und Paraaminophenollösungen. Als höchstkonzentrierte Lösungen ließen sich in dieser Weise von Orthoaminophenol eine 0,3%ige und vom Paraaminophenol eine 0,6%ige Lösung herstellen.

Die Versuchstechnik schließt sich vollständig an die früheren Arbeiten an. In Reagensglasreihenversuchen wurde die Grenzkonzentration beider

Partner bestimmt, die gerade noch zu einer Ausfällung der Additionsverbindung führte. Hierbei gingen wir so vor, daß wir zu einer Reagensglasreihe mit konstanter Vorlage des Phenolpartners fallende Mengen des anderen Partners zupipettierten. Vorher wurde in jedes Reagensglas soviel Aqua dest. eingefüllt, daß das Gesamtvolumen 10 ccm betrug. Je nach Erfordernis wurde durch Vorlage von 2 ccm einer geeigneten Pufferlösung die $[H^-]$ konstant gehalten. Da das Löslichkeitsprodukt nur dann bei verschiedenen Partnerkonzentrationen konstant bleibt, wenn es auf die undissoziierten Anteile der Reaktionspartner bezogen wird, sind in den folgenden Tabellen immer nur die undissoziierten Teile der Base $D_{N\varrho} \cdot G_N$ und des Phenols $D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph}$ angegeben. In den meisten Versuchen ist die Dissoziation beider Partner so schwach, daß die dissoziierten Teile nicht berücksichtigt zu werden brauchen. Die näheren Angaben werden jeweils im Anschluß an die Versuchsergebnisse besprochen. Die in folgenden Tabellen angegebenen Werte stammen, soweit nicht anders vermerkt, aus Versuchen, die ohne Puffer angesetzt wurden. Diese Werte wurden in einem weiteren Versuch unter Verwendung einer Phosphatpufferlösung $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$ kontrolliert.

Der Puffer hatte folgende Zusammensetzung:

89 g $Na_2HPO_4 + 2H_2O$,
68 g KH_2PO_4,
ad 2000,0 Aqua dest.

Wir gaben in jedes Röhrchen 2 ccm dieses Puffergemisches. Da bei $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$ vom Kollidin bereits drei Teile in dissoziierter Form vorliegen, wurde bei dieser $[H^+]$ durch Versetzen einer 4%igen Kollidinlösung mit HCl ein Kollidin-Kollidin-HCl-Gemisch hergestellt, das drei Teile Kollidin-HCl und einen Teil Kollidin-Base enthielt. Auf diese Weise wurde erreicht, daß auch in den gepufferten Versuchsreihen der undissoziierte Kollidinanteil $D_{N\varrho} \cdot G_N$ 1% betrug. Bei den Picolinen ist bei dieser $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$ der Dissoziationsrest nur wenig kleiner als $D_{N\varrho} = 1$.

II. Versuchsergebnisse.

Die oberste Querspalte unserer Versuchstabellen gibt die Konzentration des vorgelegten Phenolpartners an. Da das Phenol nur sehr schwach dissoziiert ist, ist die Gesamtkonzentration an Phenol G_{Ph} annähernd gleich der Konzentration des undissoziierten Phenoles $D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph}$. Die drei folgenden Querspalten enthalten die Grenzwerte der Basenkonzentrationen G_N, die gerade noch zu einer Fällungsreaktion ausreichten. Auch die Dissoziation der drei Basen ist so schwach, daß die dissoziierten Anteile der Basen ohne nennenswerten Fehler vernachlässigt werden dürfen. Das Zeichen ∞ bedeutet, daß bei der betreffenden Vorlage des Phenolpartners trotz höchstmöglicher Basenzugabe keine Reaktion mehr zu erzielen war.

Phenol $G_{Ph} = D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph} \ldots$	$4{,}2 \cdot 10^{1}$	$2{,}1 \cdot 10^{-1}$	$1{,}1 \cdot 10^{-1}$	$5{,}3 \cdot 10^{-2}$	$2{,}6 \cdot 10^{-2}$
α-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots$	$1{,}3 \cdot 10^{2}$	$3{,}8 \cdot 10^{-2}$	$1{,}1 \cdot 10^{-1}$	$3{,}0 \cdot 10^{-1}$	∞
β-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots$	$6{,}7 \cdot 10^{-3}$	$1{,}9 \cdot 10^{-2}$	$5{,}4 \cdot 10^{-2}$	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	$3{,}0 \cdot 10^{-1}$
Kollidin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots$	$2{,}9 \cdot 10^{-3}$	$5{,}8 \cdot 10^{-3}$	$1{,}7 \cdot 10^{-2}$	$3{,}3 \cdot 10^{-2}$	$4{,}6 \cdot 10^{-2}$

Orthokresol $G_{Ph} = D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph}$	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	$7{,}4 \cdot 10^{-2}$	$3{,}7 \cdot 10^{-2}$	$1{,}9 \cdot 10^{-2}$	$9{,}3 \cdot 10^{-3}$
α-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots$	$9{,}4 \cdot 10^{-3}$	$2{,}7 \cdot 10^{-2}$	$1{,}1 \cdot 10^{-1}$	$2{,}2 \cdot 10^{-1}$	$4{,}3 \cdot 10^{-1}$
β-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots$	$3{,}4 \cdot 10^{-3}$	$1{,}3 \cdot 10^{-2}$	$2{,}7 \cdot 10^{-2}$	$1{,}1 \cdot 10^{-1}$	—
Kollidin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots$	$1{,}4 \cdot 10^{-3}$	$8{,}3 \cdot 10^{-3}$	$1{,}7 \cdot 10^{-2}$	$3{,}3 \cdot 10^{-2}$	$6{,}6 \cdot 10^{-2}$

Metakresol $G_{Ph} = D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph}$	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	$7{,}4 \cdot 10^{-2}$	$3{,}7 \cdot 10^{-2}$	$1{,}9 \cdot 10^{-2}$	$9{,}3 \cdot 10^{-3}$
α-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots$	$5{,}4 \cdot 10^{-3}$	$3{,}8 \cdot 10^{-2}$	$1{,}1 \cdot 10^{-1}$	$3{,}0 \cdot 10^{-1}$	∞
β-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots$	$3{,}4 \cdot 10^{-3}$	$1{,}6 \cdot 10^{-2}$	$5{,}4 \cdot 10^{-2}$	$1{,}1 \cdot 10^{-1}$	$3{,}2 \cdot 10^{-1}$
Kollidin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots$	$1{,}0 \cdot 10^{-3}$	$4{,}1 \cdot 10^{-3}$	$1{,}7 \cdot 10^{-2}$	$3{,}3 \cdot 10^{-2}$	$6{,}6 \cdot 10^{-2}$

Parakresol $G_{Ph} = D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph}$	$1{,}5 \cdot 10^{-3}$	$7{,}4 \cdot 10^{-2}$	$3{,}7 \cdot 10^{-2}$	$1{,}9 \cdot 10^{-2}$	$9{,}3 \cdot 10^{-3}$
α-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots$	$6{,}7 \cdot 10^{-3}$	$5{,}4 \cdot 10^{-2}$	$1{,}1 \cdot 10^{-1}$	$3{,}2 \cdot 10^{-1}$	∞
β-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots$	$3{,}4 \cdot 10^{-3}$	$1{,}6 \cdot 10^{-2}$	$5{,}4 \cdot 10^{-2}$	$1{,}6 \cdot 10^{-1}$	$4{,}3 \cdot 10^{-1}$
Kollidin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots$	—	$4{,}1 \cdot 10^{-3}$	$1{,}7 \cdot 10^{-2}$	$3{,}3 \cdot 10^{-2}$	$6{,}6 \cdot 10^{-2}$

Orthochlorphenol $G_{Ph} = D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph} \ldots$	$6{,}2 \cdot 10^{-2}$	$3{,}1 \cdot 10^{-2}$	$1{,}6 \cdot 10^{-2}$	$7{,}8 \cdot 10^{-3}$	
α-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots\ldots\ldots$	$1{,}6 \cdot 10^{-2}$	$2{,}7 \cdot 10^{-2}$	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	∞	
β-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots\ldots\ldots$	$6{,}7 \cdot 10^{-3}$	$2{,}7 \cdot 10^{-2}$	$8{,}1 \cdot 10^{-2}$	$2{,}2 \cdot 10^{-1}$	
Kollidin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots\ldots\ldots$	$4{,}1 \cdot 10^{-3}$	$1{,}6 \cdot 10^{-2}$	$3{,}3 \cdot 10^{-2}$	$6{,}6 \cdot 10^{-2}$	

Metachlorphenol $G_{Ph} = D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph} \ldots\ldots$	$6{,}2 \cdot 10^{-2}$	$3{,}1 \cdot 10^{-2}$	$1{,}6 \cdot 10^{-2}$	$7{,}8 \cdot 10^{-3}$	$3{,}9 \cdot 10^{-3}$
α-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots$	$9{,}4 \cdot 10^{-3}$	$2{,}7 \cdot 10^{-2}$	$7{,}5 \cdot 10^{-2}$	$2{,}2 \cdot 10^{-1}$	∞
β-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots$	$5{,}4 \cdot 10^{-3}$	$1{,}3 \cdot 10^{-2}$	$4{,}0 \cdot 10^{-2}$	$1{,}1 \cdot 10^{-1}$	$2{,}7 \cdot 10^{-1}$
Kollidin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots$	$2{,}1 \cdot 10^{-3}$	$4{,}1 \cdot 10^{-3}$	$8{,}3 \cdot 10^{-3}$	$3{,}3 \cdot 10^{-2}$	$6{,}6 \cdot 10^{-2}$

Parachlorphenol $G_{Ph} = D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph} \ldots\ldots$	$6{,}2 \cdot 10^{-2}$	$3{,}1 \cdot 10^{-2}$	$1{,}6 \cdot 10^{-2}$	$7{,}8 \cdot 10^{-3}$	$3{,}9 \cdot 10^{-3}$
α-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots$	$9{,}4 \cdot 10^{-3}$	$2{,}7 \cdot 10^{-2}$	$7{,}5 \cdot 10^{-2}$	$2{,}2 \cdot 10^{-1}$	∞
β-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots$	$4{,}0 \cdot 10^{-3}$	$2{,}0 \cdot 10^{-2}$	$4{,}3 \cdot 10^{-2}$	$1{,}3 \cdot 10^{-1}$	$3{,}2 \cdot 10^{-1}$
Kollidin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N \ldots$	$2{,}1 \cdot 10^{-3}$	$4{,}1 \cdot 10^{-3}$	$1{,}6 \cdot 10^{-2}$	$3{,}3 \cdot 10^{-2}$	$6{,}6 \cdot 10^{-2}$

Bei den bisher angeführten Phenolbasenreaktionen zeigte sich die Reaktion in Form einer Trübung, bei der Grenzkonzentration in Form einer Opaleszenz. Nach etwa einem Tag oft auch noch schneller fielen in den stärker getrübten Röhrchen feine Tröpfchen aus, die auch nach einer Woche keine Kristallisation zeigten. Die Opaleszenzgrenze war auch nach einer Woche unverändert. Beim Metachlorphenol zeigte das ölige Reaktionsprodukt eine gelbliche, die überstehende Lösung eine grünliche Färbung. Bei den übrigen Reaktionspartnern war das Reaktionsprodukt und die überstehende Lösung farblos.

Die Dioxybenzolversuche wurden ebenfalls mit und ohne Pufferzusatz ausgeführt. Die hier angeführten Werte sind den ungepufferten Versuchen entnommen. Nur die dick gedruckten Werte entstammen gepufferten Versuchen, da diesen Werten entsprechende Versuche ohne Puffer nicht angesetzt worden waren.

Hydrochinon $G_{Ph} = D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph}$	$4{,}0 \cdot 10^{-1}$	$3{,}0 \cdot 10^{-1}$	$2{,}0 \cdot 10^{-1}$	$1{,}0 \cdot 10^{-1}$	$5{,}0 \cdot 10^{-2}$
α-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$2{,}2 \cdot 10^{-1}$	$3{,}2 \cdot 10^{-1}$	$3{,}2 \cdot 10^{-1}$	$\mathbf{4{,}3 \cdot 10^{-1}}$	$\mathbf{6{,}4 \cdot 10^{-1}}$
β-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	$2{,}2 \cdot 10^{-1}$	$3{,}0 \cdot 10^{-1}$	∞
Kollidin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	∞	∞	$4{,}6 \cdot 10^{-2}$	$6{,}6 \cdot 10^{-2}$	∞

In dieser Versuchsreihe ist bemerkenswert, daß bald nach Ansetzen des Versuchs eine oxydative gelbbraune Färbung des Hydrochinons einsetzt, deren Intensität einmal von der Konzentration an Hydrochinon, dann aber auch von der Basizität der Lösung abhängt. In ungepufferten Versuchsreihen setzte nämlich die Oxydation bei gleicher Hydrochinonkonzentration um so intensiver ein, je höher die Kollidinvorlage und damit die Basizität in den betreffenden Versuchsröhrchen war. Die oxydative Verfärbung begann an der Flüssigkeitsoberfläche und wies so darauf hin, daß es sich hier um eine Einwirkung des Luftsauerstoffes handelte. Nach einem Tage manchmal auch früher, zeigte sich in den oxydativ verfärbten Lösungen eine ebenfalls von der Flüssigkeitsgrenze nach unten zu fortschreitende Trübung. Diese Nachtrübungen traten besonders in jenen Lösungen auf, in denen die Sättigungsgrenze des Reaktionsproduktes beinahe erreicht war, so daß sich nach einem Tag Schwierigkeiten bei der Bestimmung der Löslichkeitsgrenze ergaben. Aus diesem Grunde beurteilten wir die Grenze nach der sofort auftretenden Reaktion, die einige Stunden bis zu einem Tag konstant blieb.

Versuchsröhrchen mit gleicher Hydrochinonvorlage, in denen durch höheren Basenzusatz größere Mengen des Reaktionsproduktes ausgefallen waren, wiesen bei Anwendung von Pufferlösungen eine der herabgesetzten Konzentration entsprechende geringere oxydative Verfärbung auf. Da die oxydative Zersetzung von dem Dissoziationsgrad des Hydrochinons ab-

hängig ist, Dissoziation aber nur in wässeriger Phase in nennenswertem Maße auftritt, neigt das ölige Reaktionsprodukt naturgemäß nur wenig zu Zersetzung. Die nach Tagen intensiver werdende Braunfärbung des Reaktionsproduktes ist durch Aufnahme von Zersetzungsprodukten aus der wässerigen Phase zu erklären. Dafür spricht auch, daß in der ungepufferten Versuchsreihe mit β-Picolin, die wesentlich stärkere Zersetzungserscheinungen zeigte als die gepufferte Versuchsreihe, das Reaktionsprodukt nach einer Woche eine rotbraune, feste klumpige Konsistenz angenommen hatte, die im wesentlichen aus im Reaktionsprodukt gelösten merichinonartigen Verharzungsprodukten bestanden haben dürfte. Kristalle ließen sich jedenfalls nicht erkennen. In allen anderen Versuchsreihen sahen wir nur ölige Tröpfchen.

Den Zersetzungsprodukten des Hydrochinons gegenüber scheinen die Basen nicht völlig indifferent zu sein, denn die oxydative Nachtrübung an der Flüssigkeitsgrenze trat, wie wir schon andeuteten, bei gleicher Hydrochinonkonzentration in den reaktionsfreien Versuchsröhrchen um so früher auf, je höher die Basenkonzentration war. Außerdem zeigte sich aber auch bei der oxydativen Zersetzung des Hydrochinons ein von der Base beeinflußter Farbton, der beim β-Pikolin von Gelb nach Gelbbraun übergeht, während α-Picolin und Kollidin eine mehr rötliche bis rotbraune Zersetzung zeigten.

Resorcin	$G_{Ph} = D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph}$	$8{,}0 \cdot 10^{-1}$	$4{,}0 \cdot 10^{-1}$	$2{,}0 \cdot 10^{-1}$	$1{,}0 \cdot 10^{-1}$	$5{,}0 \cdot 10^{-2}$	$2{,}5 \cdot 10^{-2}$
α-Picolin	$G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	$3{,}0 \cdot 10^{-1}$	$4{,}2 \cdot 10^{-1}$	—
β-Picolin	$G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$1{,}1 \cdot 10^{-1}$	$7{,}5 \cdot 10^{-2}$	$7{,}5 \cdot 10^{-2}$	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	$2{,}2 \cdot 10^{-1}$	$4{,}3 \cdot 10^{-1}$
Kollidin	$G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	∞	$3{,}3 \cdot 10^{-2}$	$2{,}3 \cdot 10^{-2}$	$3{,}3 \cdot 10^{-2}$	$4{,}6 \cdot 10^{-2}$	$6{,}6 \cdot 10^{-2}$

In den mit Resorcin durchgeführten Versuchen zeigte sich ein weitgehend ähnliches Versuchsbild wie beim Hydrochinon. Die oxydative Verfärbung und ebenso die Nachtrübung geht langsamer vor sich. Das Reaktionsprodukt besteht ebenfalls aus öligen Tröpfchen.

Brenzcatechin $G_{Ph} = D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph} \cdots$		1,4	$8{,}0 \cdot 10^{-1}$	$4{,}0 \cdot 10^{-1}$	$2{,}0 \cdot 10^{-1}$	$1{,}0 \cdot 10^{-1}$	$5{,}0 \cdot 10^{-2}$
α-Picolin	$G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$\mathbf{1{,}5 \cdot 10^{-1}}$	$1{,}1 \cdot 10^{-1}$	$1{,}1 \cdot 10^{-1}$	$2{,}2 \cdot 10^{-1}$	$4{,}3 \cdot 10^{-1}$	$\mathbf{5{,}4 \cdot 10^{-1}}$
β-Picolin	$G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$\mathbf{1{,}1 \cdot 10^{-1}}$	$7{,}5 \cdot 10^{-2}$	$7{,}5 \cdot 10^{-2}$	$1{,}1 \cdot 10^{-1}$	$2{,}2 \cdot 10^{-1}$	$4{,}3 \cdot 10^{-1}$
Kollidin	$G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	∞	$3{,}3 \cdot 10^{-2}$	$3{,}3 \cdot 10^{-2}$	$3{,}3 \cdot 10^{-2}$	$4{,}7 \cdot 10^{-2}$	$6{,}6 \cdot 10^{-2}$

Auch in dieser Versuchsserie bilden sich ölige Tröpfchen. In den gepufferten Kollidinversuchen trat die Nachtrübung vor der oxydativen Verfärbung auf. Daß es sich um eine oxydative Zersetzungserscheinung handelt, geht einwandfrei daraus hervor, daß auch hier die Nachtrübung an der Luftgrenze beginnt und langsam nach unten fortschreitet.

Hydrochinonmonomethyläther $G_{Ph} = D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph}$	$1{,}3 \cdot 10^{-1}$	$9{,}6 \cdot 10^{-2}$	$6{,}4 \cdot 10^{-2}$	$3{,}2 \cdot 10^{-2}$	$1{,}6 \cdot 10^{-2}$
α-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$3{,}8 \cdot 10^{-2}$	$7{,}5 \cdot 10^{-2}$	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	$\mathbf{5{,}4 \cdot 10^{-1}}$	
β-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$2{,}7 \cdot 10^{-2}$	$5{,}4 \cdot 10^{-2}$	$7{,}5 \cdot 10^{-2}$	$2{,}2 \cdot 10^{-1}$	$\mathbf{5{,}6 \cdot 10^{-1}}$
Kollidin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$8{,}3 \cdot 10^{-3}$	$1{,}2 \cdot 10^{-2}$	$1{,}7 \cdot 10^{-2}$	$3{,}3 \cdot 10^{-2}$	$6{,}6 \cdot 10^{-2}$

Die hier wiedergegebenen Werte sind die Versuchsergebnisse, die mit dem ungereinigten Hydrochinonmonomethyläther, so wie er von der Firma Schuchardt bezogen wurde, gewonnen worden sind. Diese Werte differieren in kaum nennenswertem Maße von den Werten, die wir mit einem durch mehrfaches Umkristallisieren gereinigten Präparat unter Hinzufügen eines Puffers erhalten haben. Allerdings zeigte sich in den ungepufferten Versuchen mit ungereinigtem Hydrochinonmonomethyläther nachträgliche oxydative Verfärbung, die mit einer Nachtrübung einherging. Diese Erscheinung war zum großen Teil auf Verunreinigung des Präparates zurückzuführen und blieb in den gepufferten und mit gereinigter Substanz durchgeführten Versuchen praktisch aus.

Resorcinmonomethyläther $G_{Ph} = D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph}$	$9{,}6 \cdot 10^{-2}$	$4{,}8 \cdot 10^{-2}$	$2{,}4 \cdot 10^{-2}$	$1{,}2 \cdot 10^{-2}$
α-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$1{,}9 \cdot 10^{-2}$	$7{,}5 \cdot 10^{-2}$	$3{,}0 \cdot 10^{-1}$	∞
β-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$1{,}3 \cdot 10^{-2}$	$5{,}4 \cdot 10^{-2}$	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	$4{,}3 \cdot 10^{-1}$
Kollidin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$4{,}1 \cdot 10^{-3}$	$1{,}2 \cdot 10^{-2}$	$2{,}3 \cdot 10^{-2}$	$4{,}6 \cdot 10^{-2}$

Beim Resorcinmonomethyläther sind ebenfalls die Werte der mit dem ungereinigten Präparat durchgeführten Versuche wiedergegeben. Es ergibt sich ein ähnliches Versuchsbild wie beim Hydrochinonmonomethyläther.

Guajakol $G_{Ph} = D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph}$	$9{,}6 \cdot 10^{-2}$	$8{,}4 \cdot 10^{-2}$	$7{,}2 \cdot 10^{-2}$	$4{,}8 \cdot 10^{-2}$	$2{,}4 \cdot 10^{-2}$
α-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$...	—	$\mathbf{1{,}5 \cdot 10^{-1}}$	$\mathbf{1{,}7 \cdot 10^{-1}}$	$\mathbf{6{,}4 \cdot 10^{-1}}$	∞
β-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$...	$5{,}4 \cdot 10^{-2}$	$\mathbf{7{,}5 \cdot 10^{-2}}$	$\mathbf{1{,}1 \cdot 10^{-1}}$	$2{,}2 \cdot 10^{-1}$	—
Kollidin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$...	$1{,}7 \cdot 10^{-2}$	—	—	$3{,}3 \cdot 10^{-2}$	$6{,}6 \cdot 10^{-2}$

Da wir in den Guajakolversuchen nur das reinste Präparat von Schering verwendeten, blieb hier eine oxydative Verfärbung sowohl in den gepufferten wie auch in den ungepufferten Versuchsserien aus. Jedoch trat hier in beiden Versuchsserien eine oxydative Nachtrübung ein, die in den ungepufferten Versuchen mit α-Pikolin besonders stark war und dort nach einigen Tagen sämtliche Versuchsröhrchen ergriff. In den gepufferten Versuchen mit Kollidin erhielten wir keine Reaktion, weil durch Zuführen der erforderlichen Puffermengen eine zur Reaktion ausreichende Partnerkonzentration nicht mehr erreicht werden konnte.

Das Reaktionsprodukt fiel bei allen Dioxybenzolmonomethyläthern in Form öliger Tröpfchen aus.

Metaoxybenzoesäuremethylester $G_{Ph} = D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph}$	$3{,}9 \cdot 10^{-2}$	$2{,}9 \cdot 10^{-2}$	$2{,}0 \cdot 10^{-2}$	$9{,}8 \cdot 10^{-3}$
α-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$7{,}5 \cdot 10^{-2}$	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	$4{,}3 \cdot 10^{-1}$	∞
β-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$5{,}4 \cdot 10^{-2}$	$7{,}5 \cdot 10^{-2}$	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	$\mathbf{3{,}0 \cdot 10^{-1}}$
Kollidin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$8{,}3 \cdot 10^{-3}$	$1{,}2 \cdot 10^{-2}$	$2{,}3 \cdot 10^{-2}$	$4{,}6 \cdot 10^{-2}$

Metaoxybenzoesäureäthylester $G_{Ph} = D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph}$	$1{,}2 \cdot 10^{-2}$	$9{,}0 \cdot 10^{-3}$	$6{,}0 \cdot 10^{-3}$
α-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	$3{,}2 \cdot 10^{-1}$	∞
β-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$1{,}1 \cdot 10^{-1}$	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	$2{,}1 \cdot 10^{-1}$
Kollidin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$1{,}3 \cdot 10^{-2}$	$2{,}3 \cdot 10^{-2}$	$3{,}3 \cdot 10^{-2}$

Von den sechs Oxybenzoesäuremethyl- und äthylestern ergaben nur die beiden Metaoxybenzoesäureester eine Reaktion. Das Reaktionsprodukt fällt wiederum in Form öliger Tröpfchen aus.

Die Methyl- und Äthylester der Para- und Orthooxybenzoesäure sowie die Säureamide der Ortho-, Meta- und Para-Oxybenzoesäure waren wirkungslos. Wir haben von allen diesen Phenolderivaten die höchstmöglichen Konzentrationen in den Vorlagen von 8 ccm ($G_{Ph\,I}$), 6 ccm ($G_{Ph\,II}$) und 5 ccm ($G_{Ph\,III}$) untersucht und sind in den Versuchsreihen bis zu den höchstmöglichen Volumenzugaben der 20 %igen Picolinsäurelösungen bzw. des 1 %igen Kollidins heraufgegangen. Sowohl mit als auch ohne Pufferung blieb jede Reaktion aus.

Es handelt sich dabei um den 0,2 %igen $1{,}3 \cdot 10^{-2}$ molaren Paraoxybenzoesäuremethylester ($G_{Ph\,I} = 1 \cdot 10^{-2}$, $G_{Ph\,II} = 7{,}5 \cdot 10^{-3}$, $G_{Ph\,III} = 6{,}5 \cdot 10^{-3}$); den 0,084 %igen $= 5{,}1 \cdot 10^{-3}$ molaren Paraoxybenzoesäureäthylester ($G_{Ph\,I} = 4{,}1 \cdot 10^{-3}$, $G_{Ph\,II} = 3 \cdot 10^{-3}$, $G_{Ph\,III} = 2{,}6 \cdot 10^{-3}$); den 0,07 %igen $= 4{,}6 \cdot 10^{-3}$ molaren Orthooxybenzoesäuremethylester ($G_{Ph\,I} = 3{,}7 \cdot 10^{-3}$, $G_{Ph\,II} = 2{,}75 \cdot 10^{-3}$, $G_{Ph\,III} = 2{,}3 \cdot 10^{-3}$); den 0,053 %igen $= 3{,}2 \cdot 10^{-3}$ molaren Orthooxybenzoesäureäthylester ($G_{Ph\,I} = 2{,}6 \cdot 10^{-3}$, $G_{Ph\,II} = 1{,}9 \cdot 10^{-3}$, $G_{Ph\,III} = 1{,}6 \cdot 10^{-3}$)-; das 0,25 %ige $= 1{,}82 \cdot 10^{-2}$ molare Orthooxybenzoesäureamid (Salicylamid $G_{Ph\,I} = 1{,}5 \cdot 10^{-2}$, $G_{Ph\,II} = 1{,}1 \cdot 10^{-2}$, $G_{Ph\,III} = 9{,}1 \cdot 10^{-3}$), das 1 %ige $= 7{,}3 \cdot 10^{-2}$ molare Meta- und Paraoxybenzoesäureamid ($G_{Ph\,I} = 5{,}8 \cdot 10^{-2}$, $G_{Ph\,II} = 4{,}3 \cdot 10^{-2}$, $G_{Ph\,III} = 3{,}7 \cdot 10^{-2}$).

Dabei betrugen die G_N-Höchstwerte beim 20 %igen $= 2{,}04$ molaren α- und β-Picolin $G_{N\,I} = 4{,}1 \cdot 10^{-1}$, $G_{N\,II} = 8{,}2 \cdot 10^{-1}$. Beim 1 %igen $= 8{,}25 \cdot 10^{-2}$ molaren Kollidin betrugen die G_N-Höchstwerte $G_{N\,I} = 1{,}65 \cdot 10^{-2}$, $G_{N\,II} = 3{,}3 \cdot 10^{-2}$ und $G_{N\,III} = 4{,}1 \cdot 10^{-2}$.

Metaminophenol $G_{Ph} = D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph}$	$2{,}2 \cdot 10^{-1}$	$1{,}7 \cdot 10^{-1}$	$1{,}1 \cdot 10^{-1}$
β-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$2{,}0 \cdot 10^{-1}$	$3{,}0 \cdot 10^{-1}$	$4{,}0 \cdot 10^{-1}$

Das Reaktionsprodukt fiel in Form gelblicher, öliger Tröpfchen aus. Da nach einigen Tagen auch die vorher reaktionsfreien Röhrchen deutlich opaleszent wurden, richteten wir uns bei der Festsetzung der Grenzen nach der sofort auftretenden Reaktion. Nach einigen Tagen traten in allen Röhrchen feine braune Flöckchen auf. Die überstehende Lösung nahm einen brauen Farbton an.

Wenn wir das Metaaminophenol in dem eingangs beschriebenen gepufferten Sulfitgemisch lösten und ohne weiteren Pufferzusatz untersuchten, blieb die Reaktionsgrenze die gleiche wie in der einfachen wässerigen Lösung. Das Natriumsulfit ändert also die Reaktion nicht und verhindert nur die Oxydationsstörung. Kristallisation des öligen Reaktionsproduktes wurde auch nach einer Woche nicht beobachtet.

Mit α-Pikolin und Kollidin erhielten wir keine Reaktion. Ebenso fielen sämtliche mit Ortho- und Paraaminophenol durchgeführten Versuche negativ aus. Dabei gingen wir wiederum bis zu den höchstmöglichen Volumenzugaben der 20 %igen Picolinsäurelösungen, deren $G_{N\,I}$-$G_{N\,II}$-$G_{N\,III}$-Werte schon auf S. 64 angeführt wurden. Vom Kollidin verwandten wir eine 11,45 %ige Lösung, die soweit mit m/1 HCl versetzt wurde, daß sie entsprechend $D_{N\varrho} = {}^1/_{16}$ bei einer $[H^+] = 4 \cdot 10^{-7}$ des angewandten Phosphatpuffers aus 15 Teilen Kollidin-HCl und 1 Teil Kollidinbase bestand. Seine $G_{N\,I}$ und $G_{N\,II}$-Werte weichen nur unwesentlich von den auf S. 64 angegebenen Werten ab.

Untersucht wurden vom 0,3 %igen $= 2{,}75 \cdot 10^{-2}$ molaren Orthoaminophenol ($G_{Ph\,I} = 2{,}2 \cdot 10^{-2}$, $G_{Ph\,II} = 1{,}7 \cdot 10^{-2}$, $G_{Ph\,III} = 1{,}4 \cdot 10^{-2}$) vom 0,6 %igen $= 5{,}5 \cdot 10^{-2}$ molaren Paraaminophenol ($G_{Ph\,I} = 4{,}4 \cdot 10^{-2}$, $G_{Ph\,II} = 3{,}3 \cdot 10^{-2}$, $G_{Ph\,III} = 2{,}8 \cdot 10^{-2}$). In den negativen Versuchen mit Metaaminophenol und α-Picolin und Kollidin war $G_{Ph\,I} = 2{,}2 \cdot 10^{-1}$, $G_{Ph\,II} = 1{,}7 \cdot 10^{-1}$ und $G_{Ph\,III} = 1{,}1 \cdot 10^{-1}$.

$$D_{Ph\varrho} = 0{,}09.$$

Trichlorphenol-Na $D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph}$	$6{,}8 \cdot 10^{-4}$	$4{,}6 \cdot 10^{-4}$	$2{,}3 \cdot 10^{-4}$	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$
α-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$2{,}7 \cdot 10^{-2}$	$7{,}5 \cdot 10^{-2}$	∞	∞
β-Picolin $G_N = D_{N\varrho} \cdot G_N$	$6{,}7 \cdot 10^{-3}$	$2{,}7 \cdot 10^{-2}$	$2{,}2 \cdot 10^{-1}$	∞
Kollidin, öliges Reaktionsprodukt $D_{N\varrho} \cdot G_N$	$5{,}0 \cdot 10^{-4}$	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	$1{,}2 \cdot 10^{-2}$	∞
Kollidin, kristallines Reaktionsprodukt $D_{N\varrho} \cdot G_N$	$1{,}3 \cdot 10^{-4}$	$5{,}0 \cdot 10^{-4}$	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	$3{,}3 \cdot 10^{-2}$

Die Versuche mit Trichlorphenol konnten wegen der hohen Dissoziationskonstanten des Trichlorphenols von $1 \cdot 10^{-6}$ nur mit Puffer durchgeführt werden. Wegen der schlechten Löslichkeit des Trichlorphenols verwandten wir sein Natriumsalz, von dem wir uns eine m/40 Lösung herstellten. Bei der $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$ des Phosphatpuffers bleiben vom Trichlorphenol 0,91 Teile in dissoziierter Salzform erhalten, während sich

0,09 Teile in das undissoziierte freie Phenol umwandeln. In einem Reihenversuch stellten wir die Löslichkeit des Trichlorphenol-Na im Phosphatpuffer $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$ gleich 0,0013 molar fest. Mit einer höheren Vorlage durften wir in unseren Versuchen nicht vorgehen, weil sonst das freie Trichlorphenol ausgefallen wäre. In den mit α- und β-Picolin durchgeführten Versuchen besteht das Reaktionsprodukt aus öligen Tröpfchen. Beim Kollidin fiel das Reaktionsprodukt zunächst ebenfalls in Form öliger Tröpfchen aus. Nach einigen Tagen traten dann in einigen Röhrchen Kristalle auf. Nach Impfung der übrigen Röhrchen mit diesen Kristallen zeigten auch diese ein kristallines Reaktionsprodukt. Dabei sank die Reaktionsgrenze zu wesentlich niedrigeren Kollidinkonzentrationen herunter. Aus diesem Grunde geben wir in unserer Zusammenstellung die Grenzen unter Berücksichtigung des öligen wie auch des kristallinen Reaktionsproduktes wieder.

$D_{\mathrm{Ph}\varrho} = 1.$

Metanitrophenol $G_{\mathrm{Ph}} = D_{\mathrm{Ph}\varrho} \cdot G_{\mathrm{Ph}}$	$5{,}0 \cdot 10^{-2}$	$2{,}8 \cdot 10^{-2}$	$1{,}4 \cdot 10^{-2}$	$7{,}1 \cdot 10^{-3}$	$3{,}6 \cdot 10^{-3}$
α-Picolin $G_{\mathrm{N}} = D_{\mathrm{N}\varrho} \cdot G_{\mathrm{N}}$ ..	$1{,}3 \cdot 10^{-2}$	$3{,}8 \cdot 10^{-2}$	$1{,}1 \cdot 10^{-1}$	$3{,}0 \cdot 10^{-1}$	∞
β-Picolin $G_{\mathrm{N}} = D_{\mathrm{N}\varrho} \cdot G_{\mathrm{N}}$ ..	$9{,}4 \cdot 10^{-3}$	$2{,}7 \cdot 10^{-2}$	$7{,}5 \cdot 10^{-2}$	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	$4{,}0 \cdot 10^{-1}$
Kollidin $D_{\mathrm{N}\varrho} \cdot G_{\mathrm{N}}$	$2{,}0 \cdot 10^{-3}$	$5{,}8 \cdot 10^{-3}$	$1{,}7 \cdot 10^{-2}$	$3{,}3 \cdot 10^{-2}$	∞

$D_{\mathrm{Ph}\varrho} = 0{,}6.$

Paranitrophenol $D_{\mathrm{Ph}\varrho} \cdot G_{\mathrm{Ph}}$	$3{,}0 \cdot 10^{-2}$	$1{,}7 \cdot 10^{-2}$	$8{,}4 \cdot 10^{-3}$	$4{,}3 \cdot 10^{-3}$
α-Picolin $G_{\mathrm{N}} = D_{\mathrm{N}\varrho} \cdot G_{\mathrm{N}}$	$3{,}8 \cdot 10^{-2}$	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	∞	—
β-Picolin (opaleszent) $G_{\mathrm{N}} = D_{\mathrm{N}\varrho} \cdot G_{\mathrm{N}}$	$3{,}8 \cdot 10^{-2}$	$7{,}5 \cdot 10^{-2}$	$2{,}2 \cdot 10^{-1}$	∞
β-Picolin (kristallin.) $G_{\mathrm{N}} = D_{\mathrm{N}\varrho} \cdot G_{\mathrm{N}}$	$1{,}3 \cdot 10^{-2}$	$2{,}7 \cdot 10^{-2}$	$5{,}4 \cdot 10^{-2}$	$2{,}2 \cdot 10^{-1}$
Kollidin $D_{\mathrm{N}\varrho} \cdot G_{\mathrm{N}}$	$2{,}9 \cdot 10^{-3}$	$1{,}2 \cdot 10^{-2}$	$3{,}3 \cdot 10^{-2}$	∞

Die mit den drei Nitrophenolen angesetzten Versuchsreihen wurden nur unter Verwendung eines Phosphatpuffers $[H^+] = 1 \cdot 10^{-7}$ untersucht. Bei dieser $[H^+]$ liegen vom Para- und Orthonitrophenol nur noch $D_{\mathrm{N}\varrho} = 0{,}6$ Anteile in undissoziierter Form vor. Die in den Tabellen angeführten Werte beziehen sich nur auf die undissoziierten Anteile. Metanitrophenol reagiert mit den drei Pyridinderivaten in Form öliger Tropfen. Paranitrophenol gibt mit Kollidin und α-Picolin ebenfalls ein öliges Reaktionsprodukt. Mit β-Picolin zeigte es zunächst Opaleszenz. Am nächsten Tag traten jedoch in einigen Reagensgläsern Kristalle auf. Nach Impfung der übrigen Versuchsröhrchen mit diesen Kristallen wandelte sich die ölige Additionsverbindung überall in ein kristallines Produkt um. Dabei verschob sich die Grenze zu niederen β-Picolinkonzentrationen. Mit Orthonitrophenol erhielten wir keine Reaktion, trotzdem wir die Versuche mit den höchstmöglichen Konzentrationen ansetzten. Die untersuchten Werte von $^1/_8$ %igem = 0,009 molarem Orthonitrophenol betrugen ($D_{\mathrm{Ph}\varrho} \cdot G_{\mathrm{Ph\,I}}$

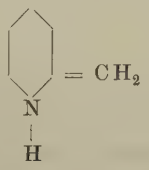
$= 3{,}8 \cdot 10^{-3}$, $D_{\mathrm{Ph}\,\varrho} \cdot G_{\mathrm{Ph\,II}} = 3{,}2 \cdot 10^{-3}$, $D_{\mathrm{Ph}\,\varrho} \cdot G_{\mathrm{Ph\,III}} = 2{,}2 \cdot 10^{-3}$) ($D_{\mathrm{Ph}\,\varrho} = 0{,}6$). Bei α- und β-Picolin war $D_{\mathrm{N}\,\varrho} \cdot G_{\mathrm{N\,I}} = 0{,}22$ molar, $D_{\mathrm{N}\,\varrho} \cdot G_{\mathrm{N\,II}} = 0{,}44$ molar, $D_{\mathrm{N}\,\varrho} \cdot G_{\mathrm{N\,III}} = 0{,}88$ molar. Bei Kollidin betrug $D_{\mathrm{N}\,\varrho} \cdot G_{\mathrm{N\,I}} = 8{,}3 \cdot 10^{-3}$, $D_{\mathrm{N}\,\varrho} \cdot G_{\mathrm{N\,II}} = 1{,}7 \cdot 10^{-2}$, $D_{\mathrm{N}\,\varrho} \cdot G_{\mathrm{N\,III}} = 3{,}4 \cdot 10^{-2}$.

III. Auswertung der Versuchsergebnisse.

Um den fällungsreaktionsfördernden bzw. hemmenden Einfluß der untersuchten Substituenten besser überblicken zu können, haben wir die Grenzkonzentrationen der Fällungsreaktionen der drei Methylpyridinderivate mit charakteristischen Vertretern der untersuchten Phenolderivate tabellarisch zusammengestellt und haben gleichzeitig auch Pyridin, die α- und β-Pyridinsäureamide und die α- und β-Pyridinsäureäthylester zum Vergleich herangezogen. Die Werte sind den oben angeführten Dissertationsarbeiten entnommen. Tabelle 1, S. 68.

Die mit *F* gekennzeichneten Längsspalten zeigen den Faktor, um den die betreffenden Pyridinderivate wirksamer sind als das unsubstituierte Pyridin selbst. Sehen wir zunächst einmal von den beiden Säureamiden ab, so geht aus der Tabelle hervor, das löslichkeitsvermindernder und reaktionssteigernder Einfluß der Substituenten wiederum weitgehend miteinander parallel (Labes, l. c.) gehen. Der Faktor *F* der Pyridinderivate zeigt gegenüber den verschiedenen Phenolderivaten durchschnittlich keine großen Unterschiede. Das weist wiederum daraufhin, daß dem Hydrophobiecharakter bei der Reaktionsbeeinflussung der Pyridinsubstituenten die ausschlaggebende Rolle zukommt. Die starke Wirksamkeitssteigerung der Methylgruppe in β-Stellung beim β-Picolin, die etwa doppelt so wirksam ist wie die α-Stellung, erscheint auffällig. Daß aber auch hier der Hydrophobiecharakter die ausschlaggebende Rolle spielt, haben unsere Aussalzungsversuche beim Pyridin, α- und β-Picolin gezeigt. Die Versuche hatten ergeben (vgl. S. 56), daß die Aussalzbarkeit in der Reihenfolge Pyridin $<$ α- $<$ β-Picolin zunimmt. In der gleichen Reihenfolge steigt der Faktor *F*.

Die stärkere Wirksamkeit der β-Stellung gegenüber der α-Stellung muß auf eine unterschiedliche Einwirkung der α- und β-Substituierung auf den Pyridinring zurückgeführt werden. So fanden z. B. Rau und Narayanaswany[3] eine außerordentlich hohe Atompolarisation beim α-Picolin, die sie zu der charakteristischen Beweglichkeit des Methylwasserstoffes in Beziehung setzen, das in der tautomeren Form



direkt reagieren kann.

[3] Rau, M. A. G., u. Narayanaswany: Z. phys. Chem. (B) **26**, 23 (1934).

Tabel

	$D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph}$	Pyridin mischbar		α-Methylpyridin α-Picolin mischbar		α-Pyridinsäure-äthylester Picolinsäure-äthylester mischbar	
		$D_{N\varrho} \cdot G_N$	F	$D_{N\varrho} \cdot G_N$	F	$D_{N\varrho} \cdot G_N$	F
Phenol	$4{,}2 \cdot 10^{-1}$	$2 \cdot 10^{-2}$	1	$1 \cdot 10^{-2}$	2	$8{,}3 \cdot 10^{-3}$	2,4
	$1 \cdot 10^{-1}$	$2{,}6 \cdot 10^{-1}$	1	$8{,}5 \cdot 10^{-2}$	3	$9{,}3 \cdot 10^{-2}$	2,8
Metakresol	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	$1{,}3 \cdot 10^{-2}$	1	$5 \cdot 10^{-3}$	2,6	$3{,}1 \cdot 10^{-3}$	4,2
	$3{,}7 \cdot 10^{-2}$	$3{,}2 \cdot 10^{-1}$	1	$9{,}5 \cdot 10^{-2}$	3,4	$9{,}3 \cdot 10^{-2}$	3,5
Metachlorphenol	$6{,}2 \cdot 10^{-2}$	$1{,}8 \cdot 10^{-2}$	1	$8{,}1 \cdot 10^{-3}$	2,2	$4{,}1 \cdot 10^{-3}$	4,4
	$1{,}6 \cdot 10^{-2}$	$2{,}2 \cdot 10^{-1}$	1	$6 \cdot 10^{-2}$	3,7	$4 \cdot 10^{-2}$	5,5
Hydrochinon-monomethyläther	$1{,}3 \cdot 10^{-1}$	$1 \cdot 10^{-1}$	1	$3{,}8 \cdot 10^{-2}$	2,6	$5{,}3 \cdot 10^{-2}$	1,9
	$6{,}4 \cdot 10^{-2}$	$4{,}8 \cdot 10^{-1}$	1	$1{,}5 \cdot 10^{-1}$	3,2	$2{,}0 \cdot 10^{-1}$	2,4
Metaoxybenzoesäure-methylester	$4 \cdot 10^{-2}$	$2{,}0 \cdot 10^{-1}$	1	$6{,}5 \cdot 10^{-2}$	3,1	$9{,}3 \cdot 10^{-2}$	2,2
Paranitrophenol	$3 \cdot 10^{-2}$	$6 \cdot 10^{-2}$	1	$3{,}8 \cdot 10^{-2}$	1,6	$5{,}3 \cdot 10^{-2}$	1,1
Hydrochinon	$2 \cdot 10^{-1}$	$3{,}3 \cdot 10^{-1}$	1	$3{,}2 \cdot 10^{-1}$	1	$5{,}3 \cdot 10^{-1}$	0,62

Der Picolinsäureäthylester ist über 20% löslich, während man beim Nikotinsäureäthylester nur eine Löslichkeit von 5,7% erreicht. Dem entspricht wiederum eine höhere Wirksamkeit des Nikotinsäureäthylesters. Das Kollidin mit seinen drei hydrophoben Methylgruppen und einer Löslichkeit von nur 1% ist das bei weitem wirksamste der Pyridinderivate.

Die beiden Säureamide fügen sich nicht der Hydrophobieregel, sondern zeigen ein spezifisches Verhalten (Labes, l. c.). Während der Säureamidsubstituent am Pyridin in Wechselwirkung mit den meisten Phenolderivaten die Reaktion unterdrückt, ist er gegenüber Paranitrophenol ebenso wirksam wie das unsubstituierte Pyridin. Mit Hydrochinon reagiert das Picolinsäureamid sogar stärker (bei der in der Tabelle angegebenen Konzentration 2,8mal so stark) als Pyridin, wobei noch zu berücksichtigen ist, daß es schon zwischen Pyridin und Hydrochinon zu einer spezifischen Reaktionssteigerung kommt. Sehen wir von diesen spezifisch reagierenden Säureamiden ab, so ergibt eine Einstufung der Pyridinderivate in der Reihenfolge ihrer reaktionssteigernden Wirkung etwa folgendes Bild:

Pyridin $<$ (α-Picolin, α-Pyridinsäureäthylester) $<$ (β-Picolin, β-Picolinsäureäthylester) $\ll$ Kollidin.

Die reaktionsbeeinflussende Wirkung der Phenolsubstituenten zeigt bei allen drei Methylderivaten des Pyridins etwa das gleiche Bild wie beim Pyridin, nur sind die Reaktionen entsprechend höherem Hydrophobiegrad verstärkt. Eine Wirksamkeitseinstufung ergibt bei den meisten Phenolderivaten die gleiche Reihenfolge, wie sie von Labes (l. c.) bei Pyridin und

Methylpyridin β-Picolin mischbar		β-Pyridinsäure-äthylester Nikotinsäure-äthylester 5,7 %		Trimethylpyridin Kollidin 1 %		α-Pyridinsäure-amid Picolinsäureamid > 5 %		β-Pyridinsäure-amid Nikotinsäureamid mischbar	
$D_{N\varrho} \cdot G_N$	F	$D_{N\varrho} \cdot G_N$	F	$D_{N\varrho} \cdot G_N$	F	$D_{N\varrho} \cdot G_N$	F	$D_{N\varrho} \cdot G_N$	F
$\cdot 10^{-3}$	2,5	$3,8 \cdot 10^{-3}$	5,3	$2,9 \cdot 10^{-3}$	6,9	∞		∞	
$\cdot 10^{-2}$	4,3	$3,4 \cdot 10^{-2}$	7,7	$1,5 \cdot 10^{-2}$	17	∞		∞	
$\cdot 10^{-3}$	5,9	$2,4 \cdot 10^{-3}$	5,4	$1 \cdot 10^{-3}$	13	$8,2 \cdot 10^{-2}$?	$^1/_2$	∞	
$\cdot 10^{-2}$	5,8	$3,8 \cdot 10^{-2}$	8,4	$1,2 \cdot 10^{-2}$	27	∞		∞	
$\cdot 10^{-3}$	4,1	$2,4 \cdot 10^{-3}$	7,5	$1,4 \cdot 10^{-3}$	13	∞		∞	
$\cdot 10^{-2}$	6,3	$2,6 \cdot 10^{-2}$	8,5	$5,8 \cdot 10^{-3}$	38	∞		∞	
$\cdot 10^{-2}$	3,7	$2,6 \cdot 10^{-2}$	3,8	$8,3 \cdot 10^{-3}$	12	∞		∞	
$\cdot 10^{-2}$	6,4	$6,8 \cdot 10^{-2}$	7,1	$1,6 \cdot 10^{-2}$	30	∞		∞	
$\cdot 10^{-2}$	5,7	$2,3 \cdot 10^{-2}$	8,7	$9,1 \cdot 10^{-3}$	22	∞		∞	
$\cdot 10^{-2}$	4,6	$2,3 \cdot 10^{-2}$	2,6	$2,9 \cdot 10^{-3}$	21	$5,7 \cdot 10^{-2}$	1	$5,9 \cdot 10^{-2}$	1
$\cdot 10^{-1}$	2,2	$1,2 \cdot 10^{-1}$	2,8	$4,6 \cdot 10^{-2}$	7,2	$1,2 \cdot 10^{-1}$	2,8	∞	

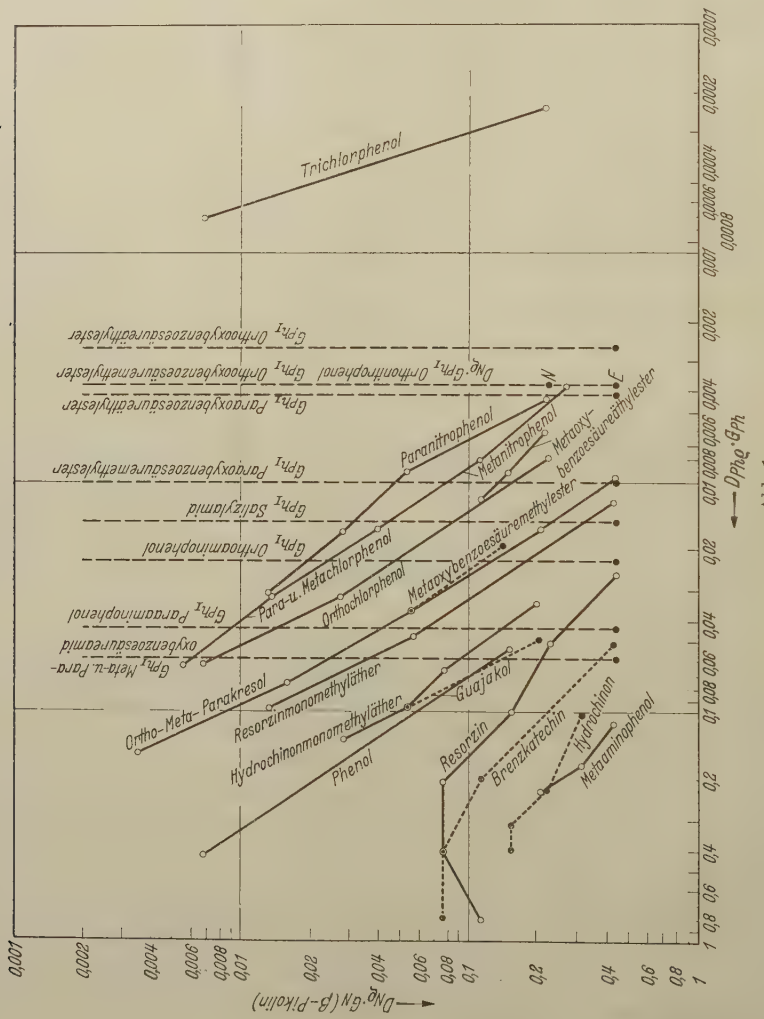
seinen Estern beschrieben worden ist, so daß sich ein nochmaliges ausführliches Eingehen auf diese Verhältnisse erübrigt. Aus diesem Grunde sollen auch nur die beim β-Picolin erhaltenen Versuchswerte kurvenmäßig dargestellt werden. Die Darstellungsweise der Verhältnisse sowohl bei den reagierenden als auch bei den nichtreagierenden Phenolderivaten ist die gleiche wie bei Labes (l. c.).

Die Löslichkeit von Orthooxybenzoesäuremethylester und der undissoziierte Rest $D_{Ph\varrho} \cdot G_{Ph}$ der Höchstlöslichkeit von Orthonitrophenol haben den gleichen Wert. Ihre $G_{Ph\,I}$-Werte sind deshalb durch die gleiche Gerade dargestellt, ihnen entsprechen aber verschiedene $G_{N\,I}$-Werte. Der mit E bezeichnete Kreis stellt den $G_{N\,I}$-Wert dar, der dem Ester entspricht, während der dem Nitrophenol zugehörige $G_{N\,I}$-Wert durch N kenntlich gemacht ist. Aus der Abbildung ergibt sich folgende Wirksamkeitsreihenfolge:

Metaaminophenol < Hydrochinon < Brenzcatechin < Resorcin < (Phenol, Guajakol) < Hydrochinonmonomethyläther < Resorcinmonomethyläther < (Ortho-, Meta- und Parakresol, Metaoxybenzoesäuremethylester) < Orthochlorphenol < Metaoxybenzoesäureäthylester < (Meta- und Parachlorphenol, Metanitrophenol) < Paranitrophenol < Trichlorphenol.

Wie aus der Zusammenstellung hervorgeht, ist das Metaaminophenol etwas unwirksamer als das Hydrochinon. Von den schlechter löslichen nicht reagierenden Para- und Orthoaminophenol ist das Paraaminophenol mindestens schlechter wirksam als Resorcin, während Orthoaminophenol sicher dem Resorcinmonomethyläther unterlegen ist.

Bemerkenswert ist die stark erhöhte Reaktionsfähigkeit von Trichlorphenol bei seiner Wechselwirkung mit Kollidin. Während nämlich in der β-Picolinabbildung die Trichlorphenolkurve nur nach rechts gegen die Phenolkurve verschoben ist, ist in der Kollodiumabbildung, die



wegen Raumersparnis nicht veröffentlicht wurde, die Trichlorphenolkurvenspitze außerdem über eine 10er-Potenz höher als die Phenolkurvenspitze. Die Wechselwirkung zwischen Kollidin und Trichlorphenol scheint also nach dem Verhalten der Kurvenspitzen wesentlich stärker zu sein, als es der Hydrophobieregel entspricht (vgl. Labes, l. c.).

IV. Intermolekulare Kräfte und ihre Beziehungen zur Phenolbasenreaktion.

Die Versuchsergebnisse dieser Arbeit bestätigen wiederum die von Labes aufgestellte Regel, daß restvalenzarme hydrophobe Substituenten die Fällungsreaktion in dem gleichen Maße verstärken, in dem sie die Löslichkeit des betreffenden Substitutionsproduktes in Wasser gegenüber dem unsubstituiertem Körper herabsetzen. Bei restvalenzreichen Substituenten wird das Bild dadurch kompliziert, daß ein Teil dieser Substituenten mehr oder weniger Neigung zeigt, seine Restvalenzen gegen Wasser abzusättigen (hydrophile Gruppen). Dies braucht sich nun keineswegs in einer erhöhten Löslichkeit der betreffenden Substanz zu äußern. Im Gegenteil ist die Löslichkeit gegenüber dem unsubstituierten Körper oft sogar wesentlich herabgesetzt, weil die Neigung dieser restvalenzreichen Gruppen zur Absättigung mit restvalenzreichen Gruppen an anderen Molekülen der gleichen Molekülart noch größer als ihre Hydrophilie sein kann (Dipolassoziation). Ob nun der löslichkeitsvermindernde oder steigernde Einfluß dieser Substituenten bei der Bildung des Reaktionsproduktes mehr zur Geltung kommt, hängt von der sterischen Lagerung der restvalenzreichen Gruppen im Molekül ab. Eine gesteigerte Wirkung auf die Fällungsreaktion ist zu erwarten, wenn es den restvalenzreichen Gruppen beider Partner gelingt, in möglichst enge räumliche Beziehung zu treten und durch Abschirmung und Absättigung die hydrophilen Gruppen der Einwirkung des Wassers zu entziehen.

Zum besseren Verständnis der hier herrschenden Gesetzmäßigkeiten scheint es angebracht, einmal kurz auf die Kräfte einzugehen, die in unseren Versuchen Hemmung oder Förderung der Fällungsreaktionen bestimmen. Im Spiel dieser Kräfte müssen wir folgende Wechselwirkungen berücksichtigen:

1. Kräfte zwischen den einzelnen H_2O-Molekülen. Hier ist im wesentlichen der Richteffekt zwischen den Dipolen wirksam. Bei tieferen und mittleren Temperaturen überwiegt nämlich bei Dipolmolekülen mit starken Momenten gegenüber den anderen Kohäsionskräften zumeist ihr Richteffekt, der hier auch ihr charakteristisches Verhalten, nämlich ihre Neigung zu Assoziation bestimmt.

2. Der Richteffekt zwischen Wasser und geeigneten dipolhaltigen Gruppen der Partner. Dem Richteffekt fällt in der Wirkung unserer restvalenzreichen Substituenten die ausschlaggebende Rolle zu. Bei Aminen, Phenolen, Alkoholen, Fettsäuren usw. kommt die Wechselwirkung mit Wasser besonders zur Geltung.

3. Kräfte zwischen den Molekülen jedes einzelnen Partners.

3a. Hier sind zunächst wiederum die restvalenzreichen polaren Gruppen bedeutsam. OH-Gruppen, COOH-Gruppen, NO_2-Gruppen zeigen eine große Neigung, sich gegenseitig abzusättigen (Dipolassoziation).

Sie führen dadurch zu einer erhöhten Kristallisationsbereitschaft, erniedrigen den Dampfdruck und zeigen in Lösungen eine Neigung zu Assoziationsbildungen, die besonders in konzentrierten Lösungen zu Abweichungen von den Gesetzen ideal gelöster Körper führen. Diese Assoziationskräfte polarer Körper nehmen mit der Temperatur stark ab, da eine höhere kinetische Energie einer Ausrichtung der Moleküle entgegenwirkt.

3b. Daneben ist hier aber auch mit Kräften zu rechnen, die hauptsächlich zwischen apolaren Körpern (Kohlenwasserstoffe usw.) oder bei hoher Temperatur in Erscheinung treten*. Sie zeigen nur geringe Richtwirkung und sind von der Temperatur weitgehend unabhängig. Diese Kräfte äußern sich in unseren Versuchen in einer ausgesprochenen Wasserfeindlichkeit, die darauf beruht, daß die Richteffekte zwischen den H_2O-Molekülen untereinander und die Dispersionskräfte zwischen den apolaren Körpern untereinander jeweils größer sind als die zwischen den polaren H_2O-Molekülen und den apolaren Körpern wirksamen Kräfte. Wir sind in der Kolloidchemie gewohnt, diese Kräfte als hydrophob zu bezeichnen.

Diese Dispersionskräfte besitzen nicht die Richtwirkung zu ganz spezifischen Atomen oder Atomgruppen, wie wir sie bei den Dipolkräften beobachten. Ihre Wirksamkeit kommt in unseren Versuchen besonders in der Haftwirkung apolarer Moleküle bzw. Molekülteile zueinander zur Geltung. Dieses unterschiedliche Verhalten der beiden Kräfte ist zum Verständnis mancher Eigenschaften unserer Additionsverbindungen wichtig**.

4. Kräfte, die zwischen den beiden Reaktionspartnern wirksam sind und mit den unter 3a und 3b angeführten Kräften identisch sind.

4c. Dazu kommt noch der Induktionseffekt, der darauf beruht, daß im Reaktionspartner durch Einwirkung eines Dipols ein Zusatzmoment induziert wird. Der Induktionseffekt macht meist nur einen Bruchteil des Dispersionseffektes aus***, jedoch weist Briegleb[4] darauf hin, daß für die große Neigung der NO_2-Gruppen zu den Kohlenwasserstoffen

---

* Diese Kräfte werden in der Phys. Chemie als Dispersionskräfte bezeichnet. Im Eucken-Wolfschen Hand- und Jahrbuch der chemischen Physik **6**, 1. Die elektrische Polarisation von O. Fuchs und K. L. Wolf, Kiel, findet sich hierüber folgende Bemerkung: „Die Dispersionskräfte beruhen darauf, daß infolge der Bewegung der Elektronen in den Atomen und Molekülen in deren Umgebung kurzperiodische elektrische Wechselfelder erzeugt werden, unter deren Einfluß in jedem von 2 sich nähernden Molekülen Momente induziert werden, aus deren Wechselwirkung, wie die Durchrechnung zeigt, insgesamt eine Anziehung resultiert. Dieser Effekt entspricht, falls der eine der beiden in Wechselwirkung stehenden Partner durch eine Lichtwelle ersetzt wird, der frequenzabhängigen Molekularrefraktion und ist wie diese temperaturunabhängig."

** Auch die Dispersionskräfte können zu einer bevorzugten Anordnung der Moleküle führen, z. B. legen sich Kohlenstoffketten der Länge nach nebeneinander, während sich die Ringe mit ihren Flachseiten aufeinanderzulegen trachten.

*** Wir haben deshalb diesen Effekt unter 3 gar nicht erwähnt.

[4] Briegleb u. Kambeitz: Z. phys. Chem. (B) **25**, 251.

der Ringsysteme der Induktionseffekt von ausschlaggebender Bedeutung ist*.

Bestimmend für das Zustandekommen der von uns untersuchten Additionsverbindungen sind die zwischen den OH-Gruppen und dem N der Stickstoffbase bestehenden Richtkräfte. Aus der starken Unlöslichkeit der Additionsverbindungen darf man den Schluß ziehen, daß die polaren Gruppen durch gegenseitige Absättigung weitgehend der Wechselwirkung mit Wasser entzogen werden.

Angaben über die Momente wie auch über die Bindungsenergie von Doppelmolekülen, die Rückschlüsse auch auf die von uns untersuchten Additionsverbindungen erlauben, finden sich bei Briegleb[5]. Er untersuchte die assoziativen Kräfte zwischen Fettsäuremolekülen. Die Fettsäuren zeichnen sich durch starke assoziative Kräfte aus. Nach Briegleb nimmt die Bindungsenergie zwischen zwei Fettsäuremolekülen mit der Länge der Kette ab. Für die Benzoesäure findet man nur noch einen relativ kleinen Wert. Es muß sich also um eine Dipolassoziation der restvalenzreichen COOH-Gruppen handeln, weil andernfalls die Bindungsenergie mit der Länge der Kette zunehmen müßte. Die Abnahme der Bindungsenergie kann durch eine sterische Behinderung durch die Kohlenwasserstoffkette erklärt werden. Bei der Assoziation tritt keine vollständige Kompensation der Partialmomente der COOH-Gruppen ein. Eine Neigung zu einer weiteren Dipolassoziation besteht aber trotzdem nicht. Briegleb schließt daraus, daß das Moment wie bei den Ketonen so abgeschirmt ist, daß für die Assoziation der Doppelmoleküle zu höheren Komplexen kaum Wechselwirkungskräfte zwischen den COOH-Gruppen sondern überwiegend Dispersionskräfte zwischen den Kohlenwasserstoffketten maßgebend sein können. Dem entspricht es, daß die für den Zusammenhalt der Fettsäuredoppelmoleküle in der Flüssigkeit maßgebenden Energiebeträge mit wachsender Kettenlänge zunehmen, obwohl die ohnehin schon kleinen Momente der Doppelmoleküle abnehmen.

Ähnliche Verhältnisse finden wir auch bei unseren Versuchen wieder. Zu einem Vergleich der Bindungsenergie der OH-Gruppe mit N gibt uns unsere Untersuchungsmethode keine direkten Anhaltspunkte, da wir die intramolekularen Wechselwirkungen nicht von den intermolekular wirksamen Kräften trennen können. Bei Annahme einer intramolekularen Ringdeckung würden neben der Dipolassoziation (OH—N) in jedem Additionsmolekül auch noch weitere Kräfte eine Rolle spielen. Würde für das Zustandekommen einer Additionsverbindung eine Wechselwirkung der Ringsysteme innerhalb eines Additionsmoleküls erforderlich sein, so sollte man einen deutlichen und übersehbaren Einfluß auf die Fällungsreaktion erwarten, wenn man die Substituenten in eine Ringstellung bringt, in der sie sich bei Ringdeckung gegenseitig gut absättigen können. Einen eindeutigen derartigen Effekt

---

* Ob für die starke Wirksamkeitssteigerung der Chlorgruppen ebenfalls Induktionskräfte ausschlaggebend sind oder die Dispersionskräfte eine größere Rolle spielen, können wir nicht entscheiden. In der Literatur haben wir hierüber keine Angaben gefunden. Die unspezifische Art der Wirksamkeit weist darauf hin, daß Richteffekte bei dem Einfluß, den die Chlorgruppe auf unsere Fällungsreaktion ausübt, nur von untergeordneter Bedeutung sein können.

[5] Briegleb: Z. phys. Chem. (B) **23**, 105; Samml. chem. u. chem.-techn. Vorträge, neue Folge, Heft 37, S. 81.

haben wir in unseren Versuchen bisher noch nicht beobachten können. Die bisher beobachteten Erscheinungen würden sich ebenso zwanglos durch intermolekulare Netzbildung (Metastellung) oder Kettenbildung (Parastellung) erklären lassen[6].

Hertel konnte in seinen röntgenographischen Kristallstudien zeigen, daß es bei einer Reihe von Additionsverbindungen gar nicht zur Bildung eines einzelnen Additionsmoleküls kommt, sondern daß sich die Komponentenmoleküle in einem ein- oder zweidimensionalen Abwechslungsprinzip aneinanderlagern und Ketten oder Netze bilden. Bei unseren Fällungsreaktionen dürfen wir wohl annehmen, daß es zur Bildung von Additionsmolekülen kommt, da sich die polaren Gruppen N und OH nur einseitig absättigen können.

Die Hertelschen Studien geben ein anschauliches Bild von der Verschiedenheit und Vielfältigkeit der Natur der in den verschiedenen Raumrichtungen wirksamen Kräfte. Auch bei unseren flüssigen Reaktionsprodukten ist die Intensität der Fällungsreaktion in starkem Maße von intermolekularen Kräften abhängig. So zeigten wir schon, daß apolare Kräfte, die hauptsächlich intermolekular wirksam sind, für das Zustandekommen der Fällungsreaktion ausschlaggebende Bedeutung haben, da sie infolge ihrer Hydrophobie zu einer Ausfällung der Additionsverbindung führen, so daß die polaren Gruppen der Additionsverbindung der Wechselwirkung mit Wasser und damit seiner dissoziierenden Kraft entzogen werden. Die Einführung hydrophober Substituenten muß also zu einer Steigerung der Intensität der Fällungsreaktion führen. Durch Einführung hydrophiler restvalenzreicher Substituenten kommt es im allgemeinen zu einer Abschwächung der Reaktion. Nur wenn eine besonders günstige sterische Lagerung zu einer gegenseitigen Absättigung der restvalenzhaltigen Gruppen führt, tritt eine spezifische Reaktionsverstärkung ein.

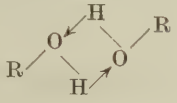
Die Nitrogruppe verfügt über starke Restvalenzen, die aber nur sehr geringe Neigung zur Absättigung mit Wasser zeigen. Sie neigt eher zu einer Absättigung mit anderen Nitrogruppen oder mit doppelbindungsreichen Ringen. Infolgedessen wird nach Einführung einer Nitrogruppe immer eine deutliche Steigerung der Fällungsreaktion beobachtet.

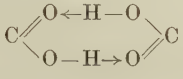
Die große assoziierende Kraft der Amine, Alkohole, Phenole und Fettsäuren, die für das spezifische Verhalten dieser Substanzen in unseren Fällungsreaktionen verantwortlich gemacht werden muß, geht weit über die Assoziationskräfte anderer Dipolmoleküle mit Momenten ähnlicher Größenordnung hinaus. Die starke Assoziationsfähigkeit dieser Gruppen muß man wahrscheinlich auf besondere Eigenschaften der H-Atome zurückführen. G. Berger[7] glaubt, daß die starke Wirksamkeit des H-Atoms durch sein kleines Atomvolumen bedingt ist. Dadurch gelingt es den H-Atomen mit ihren Partnern in besonders intensive Wechselwirkung zu treten.

---

[6] Vgl. Hertel, E., u. G. H. Römer: Phys.-Chem. Z. (B) **11**, 77. — [7] Berger, G.: Z. f. phys. Chem. (B) **22**, 283.

Eine andere Deutung dieser Kräfte geben Gillette und Shermann (zit. bei Briegleb)[5]. Sie erklären den Bindungsmechanismus durch eine wellenmechanische Austauschwirkung.





Die beiden Abbildungen zeigen, wie man sich räumlich die Wechselwirkungen zwischen den Alkoholen bzw. den Fettsäuren vorstellen muß. Nach Gillette und Shermann würden die starken Haftkräfte z. B. zwischen zwei Fettsäuremolekülen darauf beruhen, daß die Bindung der H-Atome an den O-Atomen dauernd im Sinne der in der Formel eingezeichneten Pfeile wechselt.

Die Bedeutung des H-Atoms für die Assoziationsneigung geht auch daraus hervor, daß bei Veresterung der COOH-Gruppen die Assoziationsneigung vollständig unterdrückt wird. Auch in unseren Versuchen scheint der Dispersionseffekt der Kohlenstoffkette der Estergruppe die ausschlaggebende Rolle zu übernehmen. Auf eine ähnliche Erscheinung weist Labes (l. c.) bei der Carbamidgruppe hin. Wenn man nämlich die Carbamidwasserstoffe des Nikotinsäureamids durch Azetylgruppen ersetzt, gehen die spez. restvalenzreichen Eigenschaften des Carbamids nach unseren Tastversuchen mit Coramin zum größten Teil verloren.

Zusammenfassung.

Es wurden die Fällungsreaktionen der 3 Methylpyridinderivate α Picolin, β Picolin und Kollidin mit einer Anzahl von Phenolsubstitutionsprodukten vergleichend untersucht. Dabei ergab sich, daß die Wirksamkeit der drei Pyridinderivate in der Reihenfolge Pyridin $<$ α Picolin $<$ β Picolin $\ll$ Kollidin zunimmt. Das ist die gleiche Reihenfolge in der die Hydrophilie dieser Substanzen abnimmt. Bei den Phenolsubstitutionsprodukten fanden wir die gleiche Reihenfolge, wie sie von Labes für andere Pyridinderivate gefunden wurde. Ausschlaggebend für die Intensität der Reaktion ist bei restvalenzarmsubstituierten Reaktionspartnern ihr Hydrophobiegrad. Restvalenzreiche Substituenten zeigen ein unterschiedliches Verhalten. Sie können zu einer abgeschwächten oder verstärkten Reaktion führen, je nachdem die sterischen Gruppierungen für die Lagerung der Moleküle günstiger oder ungünstiger sind. Gegenüber den Methylpyridinen, die selbst außer dem N über keine weiteren restvalenzreichen Gruppen verfügen, führen hydrophile Substituenten am Phenol wie Amine, Oxy- oder Carbamidgruppen zu einer Abschwächung bzw. zu einer völligen Unterdrückung der Reaktion. Bei den spezifischen Reaktionen kommt dem H-Atom wegen seiner starken Wechselwirkung mit Wasser und seinen stark assoziierenden Eigenschaften, die wahrscheinlich auf der Kleinheit seines Atomvolumens beruhen, ausschlaggebende Bedeutung zu.

Aus dem Institut für vegetative Physiologie der Universität Frankfurt a. Main (Direktor: Prof. Dr. K. Felix) und aus dem Pathologischen Institut der Universität Breslau (Direktor: Prof. Dr. M. Staemmler).

Experimentelle Untersuchungen zur Glykogenbildung im weißen und braunen Fettgewebe.

Von

W. Eger und V. Morgenstern.

(Eingegangen am 19. September 1938.)

a) Glykogenbildung nach Verfütterung von Kohlehydraten.

Im allgemeinen wird im Fettgewebe von Säugetieren kein Glykogen gefunden. Nur im Embryonalstadium und in der Säuglingsperiode tritt Glykogen auf[1]. Läßt man dagegen die Tiere hungern und gibt ihnen dann Kohlehydrate, so wird regelmäßig im Fettgewebe Glykogen abgelagert. Dieser Befund wurde zuerst von E. Gierke[2] mit histologischen Methoden erhoben und später von H. J. Arndt[1] und O. Richter[3] nachgeprüft und erweitert, mit chemischen Methoden von E. Wertheimer und A. Hoffmann[4, 5] bestätigt.

Bei diesen Arbeiten ist das sogenannte braune Fett nicht berücksichtigt worden. Wie der Name schon besagt, zeichnet es sich durch eine eigentümliche Braunfärbung aus, über deren Herkunft nichts Näheres bekannt ist. Es kommt bei allen Säugetieren vor, wird aber meist nur in der Säuglingsperiode gefunden. Mit zunehmendem Wachstum geht es in weißes Fett über. Bei Nagern (Ratten und Mäusen) bleibt es während der ganzen Lebenszeit erhalten. Die ersten Untersuchungen über die physiologischen Leistungen des braunen Fettes der Ratten und Mäuse hat F. X. Hausberger[6] unternommen. Mit O. Guyot[7] zusammen studierte er auch den Glykogengehalt und fand chemisch beim braunen Fett reichlich Glykogen im Säuglingsalter, eine starke Abnahme und nur noch Spuren mit dem Älterwerden der Tiere. Über den Glykogengehalt des braunen Fettes bei erwachsenen Tieren — mit histologischen Methoden untersucht — war bisher nichts Sicheres bekannt. Für unsere Untersuchungen war nun die Frage wichtig, ob das braune Fett während des Hungers Glykogen in histologisch nachweisbaren Mengen enthält.

---

[1] Arndt, H. J.: Zieglers Beitr. **79**, 69 u. 524 (1928). — [2] Gierke, E.: Ebenda **37**, 502 (1905). — [3] Richter, O.: Ebenda **86**, 65 (1931). — [4] Hoffmann, A., u. E. Wertheimer: Pflügers Arch. **217**, 728 (1927). — [5] Wertheimer, E.: Ebenda **219**, 190 (1928). — [6] Wassermann, F., u. F. X. Hausberger: Sitzber. d. Ges. f. Morph. u. Physiol. München 1932, S. 24. — [7] Hausberger, F. X., u. O. Guyot: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 647 (1937).

Ein weiterer Gegenstand unserer Untersuchungen sollte die Frage sein, wieweit sich die bisher gefundenen Unterschiede zwischen peripherem (subcutanem) und zentralem (mesenterialem) weißen Fettgewebe, zum anderen zwischen braunem und weißem Fett überhaupt in der Glykogenablagerung nach Hunger und darauffolgender Kohlehydratfütterung wiederspiegeln.

H. Ruska und Mitarbeiter[8] hatten den Sauerstoffverbrauch von Leistenfett (peripheres) und Hodenfett (zentrales) normal ernährter Ratten in der Warburg-Apparatur gemessen und dabei eine höhere Atmung des Leistenfettes festgestellt. Dieser Befund konnte von K. Felix und W. Eger[9] nicht bestätigt werden. Die Atmungsgröße ist nach diesen Untersuchungen von Tier zu Tier und von einem Fettlager zum anderen außerordentlich wechselnd und verschieden und läßt einen einheitlichen Mehrverbrauch des subcutanen Fettgewebes an Sauerstoff gegenüber dem zentralen Fett nicht erkennen. Es spielen dabei wohl nicht im einzelnen Alter, Wachstum oder Gewicht der Tiere eine Rolle, wie es H. Ruska und Mitarbeiter[8, 10] nachzuweisen versuchten, sondern ein ganzer Komplex von Faktoren, die sich in ihren Einzelheiten gar nicht übersehen lassen. Eine ähnliche Ansicht wurde auch von W. Henle und G. Szpingier[11] geäußert.

Dagegen fand man eindeutige Unterschiede in der Glykogenablagerung zwischen subcutanem und mesenterialem weißen Fettgewebe. Dafür liegen zwei Bestätigungen vor. Einmal sah E. Wertheimer[5] höheren Glykogengehalt im subcutanen Fett gegenüber dem zentralen bei wiederernährten Hunden. Ebenso stellten R. Wetzel und Th. Heid[12] im Leistenfett wiederernährter Ratten einen höheren Glykogengehalt fest als im Hodenfett. Sie führten diese Erscheinung auf strukturelle Verschiedenheit zurück. Mit histologischen Methoden sah H. J. Arndt[1] keine wesentlichen Unterschiede. Es bestand nun die Frage, wieweit sich mit histologischen Untersuchungsverfahren der chemisch geführte Nachweis des Unterschiedes beider Fettgewebslager erbringen ließ.

Wesentlich deutlicher ist die Verschiedenheit zwischen weißem und braunem Fett. Schon anatomisch lassen sich eine Reihe von Abweichungen zeigen. Bei Untersuchungen mit physiologischen Methoden fiel vor allem der bedeutend höhere Sauerstoffverbrauch gegenüber dem weißen Fett auf[8, 9, 10, 13]. Von W. Fleischmann[13] zuerst beschrieben, wurde dieser Befund von H. Ruska und Mitarbeiter[8, 10] und K. Felix und W. Eger[9] bestätigt. Andere Unterschiede konnten von F. X. Haus-

---

[8] Ruska, H., u. Th. Oesterreicher: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 42 (1934). — [9] Felix, K., u. W. Eger: Dtsch. Arch. f. klin. Med. (im Druck). — [10] Ruska, H., u. A. Quast: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 217 (1935). — [11] Henle, W., u. G. Szpingier: Ebenda **180**, 672 (1936). — [12] Wetzel, R., u. Th. Heid: Ebenda **181**, 689 (1936). — [13] Fleischmann, W.: Pflügers Arch. **222**, 547 (1929).

berger und O. Guyot[7, 14] in dem höheren Wassergehalt des braunen Fettes gegenüber dem weißen, in dem schnelleren Glykogenaufbau und -abbau bei Wiederernährung und Hunger gezeigt werden. Das braune Fett reagiert nach F. X. Hausberger[7, 14] also schneller. Die Unterschiede sind danach mehr quantitativer als qualitativer Natur. Wie sich das braune Fett nun gegenüber dem weißen bei Glykogenablagerung verhält, sollte ebenfalls mit histologischen Methoden nachgeprüft werden.

Zur ersten Frage ließen wir 10 Ratten 1—7 Tage hungern und untersuchten vom weißen Fett den Hoden- und Leistenfettkörper, vom braunen Fett das um die Nieren und Nebennieren gelagerte, das dort vom weißen Fett teilweise umgeben, teilweise in diesem verstreut liegt. Meist sind beide Fettsorten gut voneinander abgegrenzt. Hin und wieder findet man an einzelnen Stellen Übergänge. Es zeigte sich bei Bestscher Glykogenfärbung kein Glykogen im weißen wie im braunen Fett. Wir konnten damit die älteren Befunde[3] für das weiße Fett bestätigen; für das braune Fett aber sicherstellen, daß im Hunger auch in diesem Gewebe färberisch Glykogen nicht nachweisbar ist. Zur Sicherung und Kontrolle wurde auch die Leber untersucht. Sie enthielt nur in zwei Fällen wenig Glykogen.

In der nächsten Versuchsreihe ließen wir wieder die Tiere 1—6 Tage hungern und fütterten dann Kohlehydrate in Form von Semmeln (pflanzliche Stärke) ebenfalls 1—6 Tage lang. Wir fanden wie die Voruntersucher im weißen Fett massenhaft Glykogenablagerungen, konnten aber mit unseren Methoden einen Unterschied zwischen Hoden- und Leistenfett nicht sehen. Dagegen war eine auffallende Verschiedenheit zum braunen Fett vorhanden. Hier fand sich nämlich in der Regel kein Glykogen. Nur in einem Falle, bei dem im weißen Fett besonders viel Glykogen abgelagert war, enthielt auch das braune Fett solches, allerdings in weit geringerem Maße. Der Gegensatz trat im mikroskopischen Bild besonders zutage, da das braune Fett an der Niere meist von weißem umgeben ist. An Stellen des Überganges von weißem in braunes Fett, die wir schon oben erwähnten, konnte man beobachten, wie die Glykogenablagerung einsetzte, sobald das multivakuoläre braune Fett in das univakuoläre weiße Fett überging.

In der Leber war in fast allen Fällen reichlich Glykogen zu finden.

Die nächste Versuchsreihe sollte etwas über den zeitlichen Ablauf der Glykogensynthese in den einzelnen Fettlagern aussagen. Diesmal nahmen wir für die Untersuchung des braunen Fettes das zwischen den Schulterblättern gelegene hinzu. Um die Kohlehydratzufuhr genau bemessen zu können, verfütterten wir Traubenzucker in Lösung mit der Sonde nach viertägigem Hunger 6—16 Stunden lang. Das auffallendste an dieser Versuchsreihe war, daß sich im Hoden- und Leistenfett, also im weißen Fett

[14] Hausberger, F. X., u. O. Guyot: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 655 (1937).

nur bei einigen Tieren geringste Spuren von Glykogen ablagerten. Dies war um so bemerkenswerter, als wir nach Untersuchungen von O. Richter[3] schon 7 Stunden nach der ersten Fütterung eindeutig und reichlich Glykogen erwarten konnten.

Demgegenüber war im braunen Fett massenhaft Glykogen zu finden, besonders reichlich und regelmäßig nach 8stündiger Fütterung. Nach 6 und 12 Stunden war der Befund geringer, nach 16 Stunden fast überhaupt nicht mehr vorhanden. Das braune Fett der Niere und des Rückens verhielten sich dabei ungefähr gleich. Danach wird schon nach 16 Stunden im braunen Fett das Glykogen zum größten Teil abgebaut oder in Fett umgewandelt, während im weißen Fett das Glykogen noch tagelang bei Kohlehydratfütterung sich hält. Das braune Fett reagiert also schneller als das weiße.

Andererseits zeigt aber dieses Ergebnis eindeutig, daß auch qualitativ Unterschiede bestehen, wenn bei derselben Kohlehydratzufuhr in dem einen Fettgewebe Glykogen auftritt, in dem anderen aber nicht. Histologisch wird der Unterschied wieder besonders eindringlich, sobald in demselben Schnitt weißes und braunes Fett zu sehen ist oder Übergänge von einem zum anderen. Dann findet man mitunter das braune Fett vollgestopft mit Glykogen, das weiße völlig leer. Es wird weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben zu klären, warum bei der Fütterung von reinem Traubenzucker das braune Fett in hohem Maße Glykogen bildet, während im weißen nur Spuren auftreten.

Dieser Befund scheint uns aber auch die von O. Richter[3] und E. Fels[15] gemachte Beobachtung zu erklären, die nach intraperitoneal zugeführtem Traubenzucker keine Glykogenspeicherung im Fett erzielten. Sie führten dieses Phänomen auf die Art der Zufuhr zurück. Nach vorliegenden Befunden scheint es aber an der Art der zugeführten Kohlehydrate zu liegen.

Die Leber wiederum hatte in dieser Untersuchungsreihe überreichlich Glykogen gespeichert.

b) Glykogenbildung im Fettgewebe nach Verfütterung glykogenbildender Substanzen.

Die Fähigkeit verschiedener Substanzen, Glykogen zu bilden, ist bisher vorwiegend an der Leber geprüft worden. Man bediente sich dazu einmal der künstlichen Leberdurchblutung, zum anderen der Phlorrhizinvergiftung. Man fand vor allem, daß ein Teil der beim Zuckerabbau auftretenden Zwischenstufen Glykogenbildner sind[16] und konnte dies auch für eine Reihe von Aminosäuren sicherstellen[17].

[15] Fels, E.: Zbl. f. Path. **35**, 177 (1924). — [16] Abderhalden, E.: Lehrb. d. physiol. Chem. 1931, S. 238. Berlin, Urban u. Scharzenberg. (Dort weitere Literatur.) — [17] Kühnau, J.: Oppenheimer Hdb. d. Biochem., Erg.-Bd. 3, S. 558 (1936). (Dort weitere Literatur.)

Für uns war die Frage wichtig, wieweit die Zuckerabbaustufen die Tendenz haben, Glykogen im Fettgewebe abzulagern und dann über Glykogen Fett zu bilden. Diese Versuchsreihe wurde außerdem als Parallelversuch zu den Untersuchungen von K. Felix und W. Eger[19] durchgeführt, die die einzelnen Substanzen den isolierten Fettorganen in der Warburg-Apparatur zusetzten und das Verhalten des respiratorischen Quotienten studierten. Die Untersuchungen sollten sich gegenseitig ergänzen. Die daraus sich ergebenden Schlußfolgerungen werden an anderer Stelle ausgeführt[18].

Zunächst verfütterten wir mit der Schlundsonde die Abbaustufen des Zuckers und zwar Dioxyaceton, Glycerinaldehyd, Glycerin, Brenztraubensäure, Milchsäure, Acetaldehyd als Metaldehyd, Essigsäure und Ameisensäure. Wir verwendeten dazu nicht die Phosphorsäureester bei den entsprechenden Substanzen, sondern die reinen Körper. Die Säuren verabreichten wir als Calciumsalze. Natriumsalze wirkten in der erforderlichen Konzentration tötlich, wie Vorversuche ergeben hatten. Gefüttert wurde wieder nach 3—4tägigem Hunger. Die Dauer der Fütterung richtete sich nach den Ergebnissen der vorausgegangenen Versuche und wurde möglichst 8 Stunden lang durchgeführt. Manchmal erforderte der Zustand der Tiere eine frühere Tötung.

Auffallend war wieder der Unterschied zwischen weißem und braunem Fett, von dem wir diesmal nur das Rückenfett untersuchten. Im weißen Fett sahen wir nur bei Glycerinaldehyd, Glycerin und Milchsäure Spuren von Glykogen; im braunen Fett dagegen reichlich Glykogenbildung bei Glycerinaldehyd, Dioxyaceton und Glycerin, Spuren nur in einem Falle von Brenztraubensäure, etwas mehr und häufiger wieder bei Milchsäure. Bei Metaldehyd, Essigsäure und Ameisensäure war der Befund völlig negativ. Die Leber, die wir gleichsam als Test mituntersuchten, verhielt sich ähnlich. Sie enthielt bei den ersten drei Substanzen reichlichst Glykogen, bei Brenztraubensäure und Milchsäure weit weniger und auch nicht regelmäßig, bei den letzten drei Substanzen nur in einem Falle Spuren von Glykogen. Auffallend war in einigen Fällen der Antagonismus zwischen Leber und Fettgewebe; einmal in der Leber stärkste Ablagerung von Glykogen und im Fett nur Spuren, aber auch umgekehrt. Ob diesem Befund irgendwelche Bedeutung zukommt, läßt sich aus dieser Versuchsreihe nicht sagen.

Diese Versuche sind natürlich nicht eindeutig beweisend, ob das Glykogen in den Fettkörpern selbst aus diesen Substanzen gebildet wird. Es besteht die Möglichkeit, daß sie vorher in der Leber zu einem bestimmten Körper umgewandelt und über diesen erst im Fettgewebe zu Glykogen synthetisiert werden. Die Ergebnisse sind aber sehr aufschlußreich, be-

[18] Eger, W.: Verhdl. Dtsch. Path. Ges. Stuttgart (1938). — [19] Felix, K., u. W. Eger: Noch nicht veröffentlicht.

sonders im Hinblick auf die Untersuchungen von K. Felix und W. Eger[18, 19]. Es genügt uns zunächst die Feststellung, daß Dioxyaceton, Glycerin und Glycerinaldehyd eine starke Tendenz haben, im Fettgewebe Glykogen aufzubauen oder abzulagern, während dies doch bei Milchsäure und vor allem bei Brenztraubensäure in weit geringerem Maße der Fall zu sein scheint.

Die Versuchsreihe wurde noch durch die Verfütterung von Bernsteinsäure (als Calciumsalz) und durch Verfütterung von Glykokoll und Buttersäure erweitert. Durch diese letzten beiden Substanzen sollte die Brücke einmal zum Eiweiß und dann zum Fett geschlagen werden. Auch für diese Substanzen fällt das weiße Fett durch völlig negativen Befund für die Beurteilung aus. Bemerkenswert für die Bernsteinsäure ist der hohe Gehalt der Leber an Glykogen, das völlige Fehlen dagegen im Fettgewebe. Bei Glykokoll konnten wir eindeutig und teilweise sehr reichlich Glykogen im Fettgewebe feststellen, weniger reichlich aber eindeutig in der Leber. Bei Buttersäure war der Glykogengehalt im Fettgewebe positiv, in der Leber negativ. Dieser letzte Befund erscheint uns aber zunächst nicht gesichert genug, um daran Schlußfolgerungen knüpfen zu können. Hier werden weitere Versuche Klärung schaffen müssen.

c) Glykogen- und Fettbildung im Fettgewebe.

H. Baur[20] hatte mit histologischen Methoden festgestellt, daß im Hodenfettkörper der Maus zugleich mit dem Auftreten von Glykogen sich Fett neu bildete. Er ließ Mäuse hungern, entnahm vor der Fütterung den einen Hodenfettkörper und verglich ihn nach der Kohlehydratzufuhr mit dem daringebliebenen. Diese Fettbildung aus Glykogen wurde auch noch auf andere Weise wahrscheinlich gemacht. G. Scoz[21], H. Ruska und Mitarbeiter[8, 10] und W. Henle und G. Szpingier[11] fanden mittels der Warburg-Methode an isolierten Fettorganen teils nach Hunger und Wiederauffütterung, teils nach dem direkten Zusatz von Zucker einen respiratorischen Quotienten über 1. Daraus wurde auf die Möglichkeit einer Fettbildung aus Zucker in den Fettorganen geschlossen. K. Felix und W. Eger[9] führten ebenfalls derartige Versuche durch. Sie fanden respiratorische Quotienten regelmäßig über 1 nach Kohlehydratmast und eine besondere Steigerung der respiratorischen Quotienten bei Wiederauffütterung nach vorausgegangenem Hunger — mit einem Maximum nach 10stündiger Fütterung. Da nach den bisherigen Untersuchungen unter diesen Umständen eine Glykogenablagerung im Fettgewebe anzunehmen war, schlossen sie aus der Steigerung der respiratorischen Quotienten auf eine zusätzliche Bildung von Fett aus dem gespeicherten Glykogen. Auf-

[20] Baur, H.: Kongreß f. inn. Med. **43**, 403 (1931). — [21] Scoz, G.: Arch. di Sci. biol. **17**, 237 (1932).

fallenderweise konnten sie in der Regel keinen respiratorischen Quotienten über 1 bei braunem Fett finden.

Wir wollten nun die Versuche von H. Baur[20] an Ratten nachprüfen und die oben angeführten Ergebnisse von K. Felix und W. Eger[9] durch histologische Untersuchungen ergänzen. Wir wandten die Methode von H. Baur[20] an, indem wir einen Hodenfettkörper vor der Fütterung entnahmen und nach der Kohlehydrataufnahme mit der anderen Seite verglichen. Dieses Verfahren wurde sowohl bei der oben erwähnten Versuchsreihe durchgeführt, wo wir reinen Traubenzucker mittels Schlundsonde 6—16 Stunden lang verfütterten, als auch bei der Verfütterung glykogenbildender Substanzen.

Trotzdem wir bei 57 Tieren solche vergleichenden Untersuchungen anstellten, war in keinem Falle ein wirklich eindeutiges Ergebnis zu sehen. Lediglich bei Dioxyaceton, Glycerin, Brenztraubensäure und Milchsäure hatten wir in Einzelfällen den Eindruck einer Fettvermehrung nach der Fütterung. Das Fehlschlagen dieser Untersuchung könnte damit begründet werden, daß nach der Verfütterung dieser reinen Substanzen kein Glykogen im Hoden(weißen)fett sich ablagert und dann auch kein Fett gebildet werden kann (?). Dieser Frage wird ebenfalls weiter nachgegangen werden.

Vielleicht kann aber nun im Zusammenhang mit diesen Ergebnissen der Befund von K. Felix und W. Eger[9], daß bei braunem Fett kein respiratorischer Quotient über 1, d. h. also keine Fettbildung auftrat, erklärt werden. Sie untersuchten die Fettbildung nach einer Fütterungszeit von frühestens 10 Stunden. Nach dieser Zeit ist auf Grund der vorliegenden histologischen Befunde das Glykogen aus dem braunen Fett schon fast verschwunden. Der Gehalt an Kohlehydrat scheint also nicht mehr genügend zu sein, damit eine merkbare Umwandlung von Kohlehydrat in Fett sich vollziehen kann.

Experimenteller Teil.

Wir benutzten für unsere Versuche etwa 100 männliche Ratten im Gewicht von 150 bis 200 g. Die Tiere wurden in einen möglichst gleichmäßigen Fütterungszustand gebracht. Zum Versuch wurden sie in Einzelkäfigen gehalten. Die Anzahl der Hungertage richtete sich nach dem Ernährungszustand der Tiere und nach der Art des Versuchs. Es wurde nach Möglichkeit keine restlose Entspeicherung der Fettorgane angestrebt.

Von dem weißen Fett wurde als subcutanes (peripheres) das Leistenfett, als mesenteriales (zentrales) der Hodenfettkörper verarbeitet. Vom braunen Fett wurde zunächst das um die Nieren und Nebennieren gelagerte untersucht. Es ist hier sehr stark von weißem Fett umgeben und durchsetzt. Histologisch sieht man meist eine scharfe Trennung beider Fettsorten. Selten findet man direkte Übergänge. Später wurde auch das braune Fett

zwischen den Schulterblättern mit in die Untersuchung einbezogen. Dieser Fettkörper ist nur von einer Schicht weißen Fettes umgeben und läßt sich als braunes Fett ziemlich rein gewinnen.

Die Ratten wurden nach dem Versuch durch Nackenschlag getötet, das für die Glykogenfärbung notwendige Material möglichst schnell entnommen und in absolutem Alkohol fixiert. Die Einbettung geschah in Celloidin. Die Färbung wurde mit Bestschem Karmin ausgeführt. Das Material für die Fettuntersuchung wurde in 4%igem Formol fixiert und mit Sudan gefärbt.

Bei den in den folgenden Tabellen zusammengestellten Ergebnissen bedeutet:

0 = nicht auswertbares Ergebnis,
— = kein Glykogen,
± = Spuren von Glykogen,
+ = deutlich Glykogen,
++ = reichlich Glykogen,
+++ = sehr reichlich Glykogen.

1. Versuchsreihe.

In dieser Versuchsreihe untersuchten wir lediglich den Glykogengehalt nach verschieden langen Hungerperioden im weißen und braunen Fett und in der Leber. Die nachfolgende Tabelle bringt die Einzelergebnisse.

Tabelle 1.

Tier	Hungertage	Weißes Fett Hoden- und Leistenfett	Braunes Fett Nierenfett	Leber
2	1	—	—	—
17	1	—		
3	2	—	—	—
18	2	—	—	+
4	3	—	—	—
37	3			
16	4	—	—	—
6	5	—	—	
20	6	—		—
21	7	—	—	±

2. Versuchsreihe.

Diese Versuchsreihe sollte uns lediglich zur Bestätigung der Befunde der Voruntersucher dienen. Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt. Man sieht aus ihr deutlich den auffallenden Befund, daß das braune Fett fast kein Glykogen gespeichert hat, während im weißen reichlich zu finden ist.

Tabelle 2.

Tier	Hunger-tage	Kohle-hydrattage	Weißes Fett Hoden- und Leistenfett	Braunes Fett Nierenfett	Leber
19	1	1	—	—	+++
9	1	1	—	—	±
10	2	2	+	—	++
10 II	2	2	+++	—	++++
11	3	3	++	—	++
25	3	3	++	—	++
36 II	5	5	+++	+	++++
23	6	6	++	—	++

3. Versuchsreihe.

Die Tiere wurden durchweg 4 Tage auf Hunger gesetzt. Den Traubenzucker führten wir in 50%iger Lösung mit Schlundsonde zu und verabreichten davon 2 ccm dreistündlich. Die Fütterungszeit dauerte 6—16 Stunden. Bei dieser Versuchsreihe wurde auch die Fettbildung untersucht. Dazu wurde vor der Fütterung der Hodenfettkörper der einen Seite entnommen. Dies geschah am besten durch einen seitlichen Schnitt in der Unterbauchgegend und durch Herausnahme des ganzen Hodens mit Fettkörper. Wir hatten nämlich in Voruntersuchungen festgestellt, daß bei der isolierten Exstirpation des Hodenfettkörpers meist die Arteria spermatica mit unterbunden wurde, und dann der Hoden infarzierte. Sofort nach der Operation setzte die Fütterung ein. Die Ergebnisse sind aus folgender Tabelle zu ersehen.

Tabelle 3.

Tier	Traubenzucker in ccm	Fütterung in Std.	Weißes Fett Hoden- und Leistenfett	Braunes Fett		Leber
				Rückenfett	Nierenfett	
44	4	6	0	±	+	++
53	4	6	—	—	+	+++
54	4	6	±	+	+++	++++
56	4	6	—	—	—	+
58	4	6	—	++	+++	++++
40	6	8	—	++	+	++++
41	6	8	±	+++	+	+++
42	6	8	—	++	+++	++++
43	6	8	—	++	+	++++
38	8	12	—	±	—	++++
45	8	12	—	++	++	++++
46	8	12	±	++	—	++++
47	8	12	±	±	—	++++
48	8	12	±	+	0	++++
49	10	16	—	—	—	++++
50	10	16	±	+	—	0
52	10	16	—	+	—	++++
57	10	16	—	—	—	++++

4. Versuchsreihe.

In dieser Versuchsreihe wurde ebenfalls die Fettbildung verfolgt und die oben angeführte Methode angewandt. Die Schwierigkeit bei diesem Versuch war die Verfütterung der einzelnen Substanzen. Da ein großer Teil in Wasser schwer löslich ist, mußten wir uns Suspensionen herstellen. Um die Substanz dazu möglichst staubfein zu bekommen, wurde sie erst

Tabelle 4.

Tier	Substanz in g	Fütterungszeit in Std.	Weißes Fett	Braunes Fett	Leber
Di 1	4 Dioxyaceton	11	–	+++	++
„ 2	2 „	8	–	++	–
„ 3	2 „	8	–	±	+++
GA 1	4 Glycerinaldehyd	8	–	–	++
„ 2	4 „	11	±	–	++
„ 3	1 „	5	±	0	±
„ 4	1 „	5	–	+++	±
„ 5	0,5 „	9	–	±	+++
Gl 1	4 Glycerin	4	–	–	+
„ 2	3 „	13	±	++	++
„ 3	2 „	8	±	+++	+++
„ 4	1 „	9	–	+	+++
Ca Bau 1	6 Ca-Brenztraubensäure	8	–	–	–
„ „ 2	6 „	14	–	–	–
„ „ 3	6 „	14	–	–	+
„ „ 4	2 „	8	–	–	++
„ „ 5	2 „	8	–	±	++
CaL 1	4 Ca-Milchsäure	$3^1/_2$	–	+	+
„ 2	4 „	4	+	+	++
„ 3	2 „	7	–	±	–
„ 4	2 „	8	–	±	±
Ma 1	1 Metaldehyd	8	–	–	–
„ 2	0,5 „	4	–	–	–
CA 1	1 Ca-Essigsäure	3	–	–	–
„ 2	1 „	3	–	–	–
„ 3	0,5 „	$5^1/_2$	–	–	–
„ 4	0,25 „	3	–	–	–
„ 5	0,25 „	3	–	–	–
Ca Ei 1	1 Ca-Ameisensäure	$5^1/_2$	–	–	–
„ „ 2	1 „	$3^1/_2$	–	–	–
Ca Bei 1	4 Ca-Bernsteinsäure	11	–	–	–
„ „ 2	4 „	14	–	–	++
„ „ 3	1 „	9	–	–	+++
„ „ 4	1 „	9	–	–	+++
GK 1	2 Glykokoll	6	–	+	+
„ 2	2 „	9	–	–	–
„ 3	1 „	8	–	+++	–
„ 4	0,5 „	9	–	+	++
Ca Bu 1	0,5 Ca-Buttersäure	8	–	–	–
„ „ 2	0,75 „	8	–	+	–

in der Kugelmühle gemahlen. Noch schwieriger war es, die Substanz im richtigen Mengenverhältnis zu verfüttern, um nicht das Tier durch ein Überangebot vorzeitig zu töten und um andererseits einen deutlichen Effekt zu erzielen. Nach unseren Erfahrungen erhielten wir die besten Ergebnisse, wenn wir von jeder Substanz 1—2 g innerhalb 8 Stunden in zwei Portionen verfütterten. Die Substanz wurde in 5—10 ccm Wasser gelöst oder suspendiert. In Vorversuchen hatten wir festgestellt, daß Natriumsalze der zu verfütternden Säuren in höherer Konzentration tötlich wirken. Um diesen toxischen Einfluß des Natriumions zu vermeiden, benutzten wir Calciumsalze, die noch den Vorzug hatten, schwerer löslich zu sein und deshalb langsamer resorbiert werden. Acetaldehyd ließ sich auch in stark verdünnter Lösung nicht verfüttern, da die Tiere sofort eingingen. Wir nahmen deshalb das Polymerisationsprodukt Metaldehyd. Die Hungerzeit betrug durchweg wieder 3—4 Tage, je nach dem Zustand der Tiere. Die Ergebnisse mit Angabe der verfütterten Substanzen finden sich in Tabelle 4.

Zusammenfassung.

1. Nach Hunger ist im weißen und braunen Fett ausgewachsener Ratten mit histologischen Methoden kein Glykogen nachweisbar.

2. Bei Fütterung mit Weißbrot nach vorausgegangenem Hunger wird im weißen Fett reichlich Glykogen abgelagert, im braunen spärlich oder gar nicht.

3. Dagegen findet man unter denselben Vorbedingungen nach Fütterung mit reinem Traubenzucker reichlich Glykogen im braunen, spärlich im weißen Fett.

4. Nach Hunger und anschließender Fütterung mit Dioxyaceton, Glycerinaldehyd, Glycerin, Milchsäure, Brenztraubensäure und Glykokoll tritt in der Leber und im braunen Fett, seltener im weißen Glykogen in wechselnder Stärke auf; bei Bernsteinsäure reichlich in der Leber, aber nichts im Fett.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Greifswald.

Fermentativer Abbau von l-Dioxyphenylalanin (Dopa) durch Niere*.

Von

Peter Holtz und **Rudolf Heise**

unter Mitarbeit von **Käthe Lüdtke.**

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. September 1938.)

Unsere Kentnisse vom Abbau der Aminosäuren im tierischen Organismus sind in den letzten Jahren durch neue Untersuchungen wesentlich erweitert worden. Insbesondere die Arbeiten von Krebs[1] haben gezeigt, daß neben der Leber die Niere das wichtigste Organ des Aminosäurenstoffwechsels ist. Der Abbaumechanismus entspricht dem Reaktionsschema, das vor ungefähr 30 Jahren von Knoop und von Neubauer in ihren grundlegenden Untersuchungen aufgestellt wurde: Die Aminosäure wird unter oxydativer Desaminierung in die entsprechende Ketonsäure übergeführt.

$$R \cdot CH_2 \cdot \underset{\displaystyle NH_2}{\overset{\displaystyle |}{CH}} \cdot COOH \xrightarrow[-NH_3]{+O} R \cdot CH_2 \cdot CO \cdot COOH$$

Der Aufnahme von 1 Atom Sauerstoff entspricht die Abspaltung von 1 Molekül Ammoniak.

Ein wesentlich neuer Befund ist die Beobachtung von Krebs[1], daß in Versuchen mit Gewebsschnitten oder Gewebsbrei unter den von ihm angewandten Versuchsbedingungen in größerem Umfange nur die nicht natürlich vorkommenden, konfigurationsmäßig der d-Reihe angehörenden Aminosäuren auf diese Weise abgebaut werden, während die meisten natürlichen, der l-Reihe zugehörigen Aminosäuren überhaupt nicht oder doch nur in weit geringerem Maße oxydiert und desaminiert werden. Die l-Desaminase unterscheidet sich in wesentlichen Eigenschaften von der d-Desaminase. Sie wird im Gegensatz zu dem auf die nicht natürlich vorkommenden Isomeren eingestellten Ferment nur in Versuchen mit Gewebsschnitten, allenfalls noch mit Gewebsbrei wirksam gefunden; ihre Wirksamkeit geht nicht in den Gewebsextrakt über. Blausäure und Octylalkohol hemmen ihre Wirkung stark, sie lassen die Wirkung der d-Desaminase fast unbeeinträchtigt.

---

* Über einen Teil der Ergebnisse wurde auf der Pharmakologentagung in Berlin berichtet: P. Holtz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 178 (1938).

[1] Krebs, H. A.: Z. physiol. Chem. **217**, 191 (1933); Biochem. J. **29**, 1620 (1935).

Es ergibt sich somit die zunächst überraschende Tatsache, daß dem Organismus für den Abbau der ihm unter natürlichen Verhältnissen überhaupt nicht angebotenen Eiweißbausteine anscheinend wirksamere Mittel zur Verfügung stehen als für die Nutzbarmachung der ihm täglich mit der Nahrung zugeführten, natürlich vorkommenden optischen Isomeren, die auch für die Reaktionen im intermediären Stoffwechsel, soweit es sich um den Abbau und Umbau von Organeiweiß handelt, das allein in Frage kommende Substrat sein dürften. Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß die Versuche von Neubauer und von Knoop, die zur Auffindung der oxydativen Desaminierung als des Hauptweges des Aminosäurenabbaus führten, zum größten Teil mit den nicht natürlichen Formen bzw. den racemischen Gemischen ausgeführt wurden und deshalb nicht zu der Schlußfolgerung berechtigen, daß auch für die natürlich vorkommenden Aminosäuren die oxydative Desaminierung der einzige Weg oder auch nur der Hauptweg des Abbaus im Organismus ist.

Wir kennen mehrere Fermente, die mit einem für jedes von ihnen verschiedenen und spezifischen Wirkungsmechanismus einzelne natürlich vorkommende Aminosäuren, und nur diese abbauen, wobei mitunter weder eine Abspaltung von Ammoniak noch überhaupt eine Mitwirkung von Sauerstoff stattzufinden braucht. So wird z. B. das natürlich vorkommende Arginin durch das von Kossel und Dakin[2] entdeckte Arginaseferment der Leber bei Abwesenheit von Sauerstoff hydrolytisch in Ornithin und Harnstoff gespalten. — Die natürliche Form des Histidins, das l-Histidin, wird — ebenfalls unter anaeroben Bedingungen — durch die Histidase der Leber abgebaut. Der primäre Angriffspunkt des Ferments ist nach Edlbacher[3] nicht etwa die Aminogruppe der Seitenkette, sondern der Imidazolring, aus dem unter hydrolytischer Aufspaltung ein Stickstoffatom als Ammoniak in Freiheit gesetzt wird. Aus einem hierdurch entstehenden Zwischenprodukt kommt es zur Abspaltung eines weiteren Moleküls Ammoniak. Die Endprodukte der Reaktion sollen neben Ammoniak Glutaminsäure und Ameisensäure sein. — Auch das natürlich vorkommende l-Tyrosin wird, wie wir durch neuere Arbeiten[4, 5] wissen, im Gegensatz zu dem nicht natürlichen Isomeren durch Nieren- und Lebergewebe nicht desaminiert, sondern nur dehydriert. In der Leber scheint ein Ferment vorhanden zu sein, das über die einfache Dehydrierung hinaus dann einen weitergehenden Abbau unter Öffnung des Ringes veranlaßt.

In der vorliegenden Arbeit zeigen wir, wie eine andere natürlich vorkommende Aminosäure, l-Dioxyphenylalanin, die auch pharmakologisches Interesse besitzt wegen ihrer engen Beziehungen zum Adrenalin und zur

[2] Kossel, A., u. Dakin: Z. physiol. Chem. **41**, 321 (1904); **42**, 181 (1904). — [3] Edlbacher S. und Mitarbeiter: Z. physiol. Chem. **157**, 106 (1926); **191**, 225 (1930); **195**, 267 (1931); **224**, 261 (1934). — [4] Bernheim, F.: J. of biol. Chem. **111**, 217 (1935). — [5] Felix, K., K. Zorn u. H. Dirr-Kaltenbach: Z. physiol. Chem. **247**, 141 (1937).

Melaninbildung, durch ein in der Niere vorhandenes Fermentsystem in einem unseres Wissens bisher noch nicht beobachteten Reaktionsmechanismus abgebaut wird, wobei es auf dem zu den Endprodukten der Reaktion führenden Abbauweg zur Entstehung pharmakologisch wirksamer Substanzen kommt.

Versuchsergebnisse.

1. Entstehung von Oxytyramin aus Dioxyphenylalanin.

a) Biologischer Nachweis.

In früheren Arbeiten[6a–e] haben wir gefunden, daß Leber- und insbesondere Nierengewebe der verschiedensten Tierarten Fermente enthält, welche die Aminosäuren Histidin und Tyrosin zu den entsprechenden Aminen decarboxylieren. Die wichtigsten Eigenschaften dieser Fermente waren folgende:

1. Ihr Wirkungsoptimum lag bei p_H 7—8;

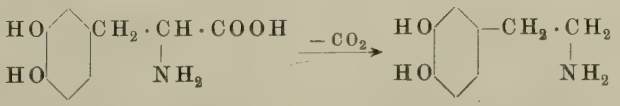
2. ihre Wirksamkeit war nicht an die lebende Zelle gebunden, sondern ging in den Gewebsextrakt über;

3. die Fermentwirkung war optisch spezifisch, indem nur die natürlich vorkommenden Formen der beiden Aminosäuren, das l-Histidin und l-Tyrosin decarboxyliert wurden;

4. die Decarboxylase wurde schon durch m/1000 Konzentrationen von Blausäure stark gehemmt.

Zum Nachweis der Fermentwirkung war es nötig, die Versuche unter Ausschluß von Sauerstoff anzusetzen, da bei Sauerstoffgegenwart die entstandenen Amine durch die aminzerstörenden Fermente, die Histaminase und die Tyraminase, zu pharmakologisch unwirksamen Produkten abgebaut wurden.

Unter diesen Gesichtspunkten haben wir Nierenextrakte auf Dioxyphenylalanin einwirken lassen und untersucht, ob die Aminosäure zum Amin — Oxytyramin — decarboxyliert wird:



Dioxyphenylalanin Oxytyramin

Als Testobjekt für etwa entstandenes Amin diente, wie in unseren früheren Arbeiten, der Blutdruck der mit Pernocton narkotisierten Katze.

[6] a) Holtz, P., u. R. Heise: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 377 (1937); b) Holtz, P., u. H. Janisch: Ebenda **186**, 684 (1937); c) Holtz, P., R. Heise u. W. Spreyer: Ebenda **188**, 580 (1938); d) Holtz, P.: Klin. Wschr. **1937**, S. 1561; e) Holtz, P.: Z. physiol. Chem. **251**, 226 (1938).

Methodik.

Herstellung der Fermentlösungen. Frisch entnommene Nieren verschiedener Tierarten werden mit der Schere zerkleinert und im Mörser mit Quarzsand verrieben. Meistens wird nur das Rindengewebe verwendet. Der Gewebsbrei wird mit der 5—10fachen Menge m/10 oder m/20 Phosphatpuffer extrahiert und dann 5—10 Minuten lang zentrifugiert. Mit der überstehenden Lösung werden die Versuche angesetzt.

Versuchsansatz. In großen Reagensgläsern werden je 5 ccm Fermentlösung mit je 5 ccm wässeriger Lösung von l- bzw. d, l-Dioxyphenylalanin (Hoffmann La Roche und Fraenkel und Landau) versetzt. Diese enthält im allgemeinen 2 mg Dioxyphenylalanin in 1 ccm Aqua dest. und wird unter leichtem Erwärmen hergestellt. Die Ansätze werden mit 0,5—1,0 ccm Toluol überschichtet und 3 Minuten lang mit Stickstoff durchströmt, der vorher über glühendes Kupfer geleitet wurde. — Die Kontrollen enthalten 5 ccm Fermentlösung + 5 ccm Aqua dest. bzw. 5 ccm Phosphatpuffer + 5 ccm Dioxyphenylalaninlösung. Alle Versuchslösungen werden dann in den Brutschrank (38°) gebracht. — In Versuchen mit Blausäure und Octylalkohol werden in jedes Versuchsglas 0,5 ccm m/50 KCN bzw. 2 Tropfen Octylalkohol gegeben.

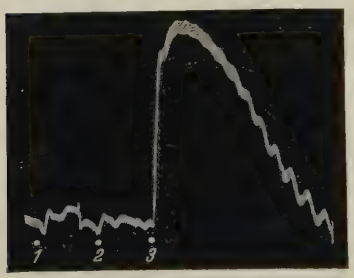


Abb. 1. Oxytyraminbildung aus l-Dopa durch Schweineniere. 5 ccm Phosphatextrakt aus Schweineniere + 10 mg l-Dopa in 5 ccm Aqua dest. *Kontrollen*: 5 ccm Nierenextrakt + 5 ccm Aqua dest.; 5 ccm Phosphatpuffer + 10 mg l-Dopa in 5 ccm Aqua dest. — Alle Lösungen 5 Stunden in N_2-Atmosphäre. 37°. Katze. Pernoctonnarkose. Blutdruck in der art. femoral.
1 = 1 ccm Nierenextrakt.
2 = 1 ccm l-Dopa (1 mg).
3 = 1 ccm Nierenextrakt + l-Dopa (1 mg).

Läßt man Phosphatextrakt aus Niere, z. B. aus Schweineniere, auf Dioxyphenylalanin bei Körpertemperatur unter Ausschluß von Sauerstoff einwirken, so entsteht aus der pharmakologisch unwirksamen Aminosäure eine Substanz, die bei intravenöser Injektion den Blutdruck der Katze stark erhöht (Abb. 1). Durch 5 Minuten langes Erhitzen auf 80° verliert der Nierenextrakt die Fähigkeit zur Umwandlung des Dioxyphenylalanins in die pharmakologisch wirksame Substanz.

Im Gegensatz zum Tyramin und zu der aus Tyrosin bei der Einwirkung von Nierenextrakt entstehenden pressorischen Substanz, deren Identität mit Tyramin wir vor kurzem auch mit chemischen Methoden nachwiesen[6e], wird die aus Dioxyphenylalanin gebildete Substanz in ihrer Gefäßwirkung durch Cocain verstärkt und schließt sich damit pharmakologisch an das Adrenalin an (Abb. 2). Während im Versuch der Abb. 2 Adrenalin und der Versuchsansatz „Nierenextrakt + Dopa" nach Cocain eine stärkere Blutdrucksteigerung hervorrufen als vorher, ist Tyramin jetzt ohne jede Wirkung. Der Ansatz „Nierenextrakt + Tyrosin" wirkt nach Cocain sogar blutdrucksenkend, was seinen Grund darin hat, daß nach der Ausschaltung der pressorischen Wirksamkeit des entstandenen Tyramins die depressorischen Substanzen des Gewebsextraktes allein wirksam bleiben.

Es liegt nahe, auf Grund der Ergebnisse unserer früheren Untersuchungen über die fermentative Bildung von Histamin und Tyramin aus

den entsprechenden Aminosäuren die vom Dioxyphenylalanin sich ableitende blutdruckwirksame Substanz für Oxytyramin, das Decarboxylierungsprodukt der Aminosäure, zu halten. — Oxytyramin wurde, soweit wir aus der Literatur ersehen, zum erstenmal von Schmalfuss und Heider[7] als Naturprodukt nachgewiesen, und zwar im Besenginster. Es soll hier

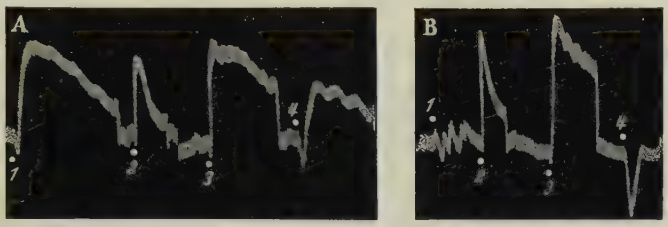


Abb. 2. Beeinflussung der Blutdruckwirkung durch Cocain. Vergleich mit Tyramin und Adrenalin. 5 ccm Phosphatextrakt aus Meerschweinchenniere (m/10 p_H 8) + 10 mg l-Dopa bzw. l-Tyrosin in 5 ccm Aqua dest. 8 Stunden in N_2-Atmosphäre. Katze. Blutdruck. A = vor Cocain, B = nach 10 mg/kg Cocainhydrochlorid.

1 = 0,5 mg Tyramin.
2 = 10 γ Adrenalin.
3 = 0,3 ccm Nierenextrakt + Dopa (0,3 mg).
4 = 0,5 ccm Nierenextrakt + l-Tyrosin (0,5 mg).

die Muttersubstanz des schwarzen Pigments sein, das sich im Herbst in der Schale der Ginsterschoten entwickelt. Aus derselben Pflanze wurde es etwas später von Wolfes[8] isoliert und von Kreitmair und Sieckmann[9] pharmakologisch untersucht. Es wirkte stark gefäßverengernd. Die gefäßverengernde Wirkung war ungefähr 40mal schwächer als diejenige des Adrenalins. Sie wurde wie diejenige des Adrenalins durch Cocain verstärkt.

Einfluß des p_H.

Wir extrahieren Schweineniere mit m/10 Phosphatlösung von verschiedenem p_H und lassen die Extrakte auf l-Dioxyphenylalanin einwirken. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen unserer Untersuchungen über die fermentative Entstehung von Histamin und Tyramin findet sich auch hier, daß die Aminausbeute bei annähernd neutralem p_H am größten ist. In Versuchen bei p_H 7,4 und 8,0 zeigt sich kein deutlicher Unterschied, dagegen ist die Aminbildung bei p_H 5 immer deutlich geringer und läßt sich mitunter überhaupt nicht mehr nachweisen.

Optische Spezialität.

Wir lassen Phosphatextrakte aus Niere auf gleiche Mengen l- und d, l-Dioxyphenylalanin* einwirken und finden, daß die der Aminbildung

[7] Schmalfuss, H. u. A. Heider: Biochem. Z. **236**, 226 (1931). — [8] Wolfes, O.: E. Mercks Jahresbericht **1937**, S. 111. — [9] Kreitmair, H. u. W. Sieckmann: Ebenda **1937**, S. 113.

* Die reine d-Form stand uns nicht zur Verfügung.

zugrundeliegende Fermentreaktion optisch spezifisch ist. Nur aus der natürlich vorkommenden l-Form der Aminosäure wird Oxytyramin ge-

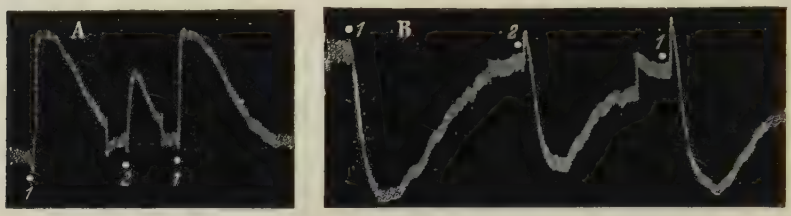


Abb. 3. Optische Spezifität.
2 ccm Phosphatextrakt aus Meerschweinchenniere + 2 mg l- bzw. d, l-Dopa in 0,5 ccm Aqua dest. A: $1^1/_2$ Stunden in N_2-Atmosphäre geschüttelt (Warburg-Apparatur). B: Nach Zusatz von 2 mg Ascorbinsäure (neutralisiert) pro Versuchsglas $1^1/_2$ Stunden in O_2-Atmosphäre geschüttelt.
1 = 0,5 ccm Nierenextrakt + l-Dopa.
2 = 0,5 ccm Nierenextrakt + d, l-Dopa.

bildet (Abb. 3A). Das stimmt überein mit den Befunden unserer früheren Untersuchungen über Histaminbildung durch die Decarboxylase der Niere. Auch diese erfolgte nur aus dem natürlichen l-Histidin.

Blausäure und Octylalkohol.

Weiterhin in Übereinstimmung mit unseren Beobachtungen bei der fermentativen Histamin- und Tyraminbildung gilt auch für das decarboxylierende Ferment des Dioxyphenylalanins, daß seine Wirksamkeit durch Blausäure gehemmt wird. Schon m/1000 Konzentrationen von KCN haben eine deutliche Wirkung. — Octylalkohol läßt die Fermentwirkung im allgemeinen unbeeinflußt, in manchen Versuchen ist die Aminausbeute sogar erhöht (Abb. 4).

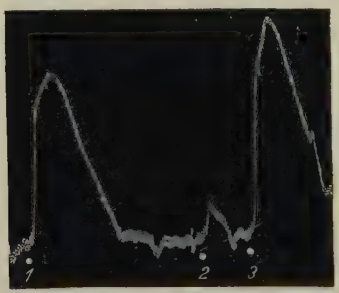


Abb. 4. Oxytyraminbildung. Einfluß von Blausäure und Octylalkohol. 5 ccm Phosphatextrakt aus Meerschweinchenniere + 10 mg l-Dopa in 5 ccm Aqua dest. 6 Stunden in N_2-Atmosphäre. KCN: 0,5 ccm m/50. Octylalkohol: 2 Tropfen. Katze. Blutdruck.
1 = 0,5 ccm Nierenextrakt + Dopa.
2 = Dasselbe + KCN.
3 = Dasselbe + Octylalkohol.

Oxytyraminbildung bei verschiedenen Tierarten und Aminausbeute.

Wir extrahieren gleiche Gewichtsmengen Nierenrinde von Meerschweinchen, Kaninchen, Schwein und Ratte mit der zehnfachen Menge m/10 Phosphatpuffer und lassen die Fermentlösungen unter Ausschluß von Sauerstoff auf gleiche Mengen l-Dioxyphenylalanin einwirken (Abb. 5). Meerschweinchenniere ist wirksamer als diejenige der anderen untersuchten Tierarten. Die Wirksamkeit der Schweineniere beträgt nur ungefähr 70—75% von derjenigen der Meerschweinchenniere (Abb. 5A). Kaninchenniere bildet

deutlich weniger Amin als Schweineniere (Abb. 5B). Rattenniere ist nur sehr wenig wirksam, meistens gänzlich unwirksam (Abb. 5A). In 7 von 9 Versuchen konnten wir nicht die geringste Aminbildung nachweisen. – Als Reihenfolge der Wirksamkeit ergibt sich demnach: Meerschweinchen > Schwein > Kaninchen > Ratte.

Auswertungsversuche mit Meerschweinchenniere ergaben, daß die Aminausbeute fast 100 % betragen kann*. In einem Versuch z. B. wirkten

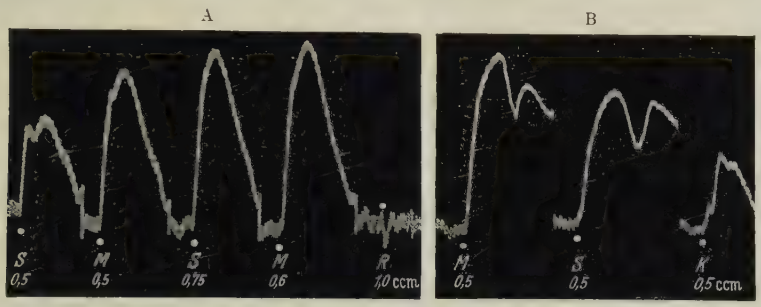


Abb. 5. Oxytyraminbildung bei verschiedenen Tierarten.
5 ccm Phosphatextrakt aus Niere + 10 mg l-Dopa in 5 ccm Aqua dest. A: 2 Stunden in N_2. B: 5 Stunden in N_2. Katze. Blutdruck. (A und B entsprechen Versuchen an zwei verschiedenen Katzen.) S = Schweineniere, R = Rattenniere, M = Meerschweinchenniere, K = Kaninchenniere.

2 ccm Nierenextrakt auf 2 mg l-Dioxyphenylalanin (in 1 ccm Aqua dest.) 2 Stunden lang ein. Aus 2 mg Dioxyphenylalanin (Mol.-Gew. 195) können theoretisch 1,54 mg Oxytyramin (Mol.-Gew. 151) entstehen. 0,3 ccm = $^1/_{10}$ des Versuchsansatzes müßten demnach bei vollständiger Umwandlung der Aminosäure in das Amin der Wirksamkeit von 0,15 mg Oxytyramin oder von 0,3 ccm der zur Auswertung benutzten $^1/_2$ ‰igen Lösung von Oxytyramin entsprechen. Wir finden, daß 0,3 ccm des Versuchsansatzes etwas schwächer als 0,3 ccm Oxytyramin-, aber stärker als 0,25 ccm Oxytyraminlösung wirken. Die Aminausbeute beträgt demnach in diesem Versuch mindestens 90 %.

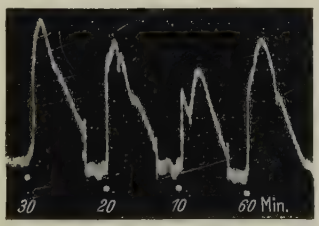


Abb. 6. Oxytyraminbildung. Zeitlicher Verlauf. 3 ccm Phosphatextrakt aus Meerschweinchenniere + 6 mg l-Dopa in 3 ccm Aqua dest. N_2-Atmosphäre. Katze. Blutdruck. Injektion von 0,5 ccm nach 10, 20, 30 und 60 Minuten langem Aufenthalt im Brutschrank bei 37°. (Siehe Methodik S. 93 und 94.)

Zeitlicher Verlauf der Aminbildung.

Wir setzen unter den gleichen Bedingungen wie bisher drei Versuchsgläser gleichzeitig an. Jedes enthält 5 ccm Phosphatextrakt aus Meerschweinchenniere + 10 mg l-Dioxyphenylalanin in 5 ccm Aqua dest. Nach 15, 30 und 60 Minuten langem Stehen im Brutschrank werden die Gläser

* Der Firma E. Merck, Darmstadt danken wir für die Überlassung von Oxytyramin.

einzeln herausgenommen, die in ihnen enthaltene Lösung mit einigen Tropfen Salzsäure auf p_H 5 gebracht und durch Kochen enteiweißt. Das Filtrat bleibt sauer, bis der letzte Versuchsansatz enteiweißt ist. Dann werden alle Filtrate mit Natronlauge neutralisiert und im Blutdruckversuch miteinander verglichen (Abb. 6). — Die Aminausbeute ist nach 60 Minuten nicht größer als nach 30 Minuten. Die auch hier vorgenommene Auswertung gegen Oxytyramin ergibt, daß die Aminosäure fast 100%ig in das Amin umgewandelt worden ist. Demnach ist das gesamte Dioxyphenylalanin schon in 30 Minuten in Oxytyramin übergegangen.

b) Chemischer Nachweis.

Um die aus Dioxyphenylalanin entstehende blutdrucksteigernde Substanz zu isolieren und zu identifizieren, benutzten wir im Prinzip die gleichen Methoden, die wir[6c] zum chemischen Nachweis des von Nierenextrakten aus Tyrosin gebildeten Tyramins angewandt hatten: Das Amin wird der enteiweißten Versuchslösung mit Amylalkohol entzogen, aus der amylalkoholischen Lösung mit Salzsäure ausgeschüttelt und dann als Benzoylderivat dargestellt. Wir haben Versuche mit Schweineniere und Meerschweinchenniere gemacht. Als Beispiel sei ein Versuch mit Schweineniere im einzelnen beschrieben.

50 g Schweineniere (Rinde) werden mit der Schere zerkleinert und dann im Mörser mit Quarzsand zu einem feinen Brei verrieben. Der Brei wird mit 250 ccm m/20 Kaliumphosphatpuffer vom p_H 7,4 5 Minuten lang unter Verreiben extrahiert und dann zentrifugiert. Die überstehende Lösung wird in einem Erlenmeyer-Kolben mit 250 mg l-Dioxyphenylalanin in 20 ccm Aqua dest. versetzt und nach Hinzufügen einiger ccm Toluol 5 Minuten lang mit reinem Stickstoff durchströmt. Der Versuchsansatz bleibt dann 8 Stunden im Brutschrank bei 38°. — Hierauf wird mit 10—15 ccm 50%iger Trichloressigsäure enteiweißt, das Filtrat durch mehrfaches Ausschütteln mit Äther vom größten Teil der Trichloressigsäure befreit und im Vakuum bei 50–60° zur Trockne eingedampft. An dieser Stelle der chemischen Aufarbeitung wird eine biologische Auswertung im Blutdruckversuch an der Katze vorgenommen. Hierzu nehmen wir den Trockenrückstand in 20 ccm Aqua dest. auf, neutralisieren einen aliquoten Teil mit Natronlauge und vergleichen die blutdrucksteigernde Wirkung der Lösung mit derjenigen reinen Oxytyramins. Hiernach mußten ungefähr 90 mg Oxytyramin entstanden sein. — Die übrige Lösung wird jetzt bei alkalischer Reaktion mit Amylalkohol ausgeschüttelt. Vor dem Zusatz und während des Zusatzes der Kalilauge und des Amylalkohols wird mit Wasserstoff oder Stickstoff durchströmt, um die sonst unter dem Einfluß des Luftsauerstoffs schnell eintretende Schwarzbraunfärbung einzuschränken bzw. zu verlangsamen. Dann schütteln wir viermal mit je 40 ccm Amylalkohol aus. Trotz der angewandten Vorsichtsmaßregeln

sind die Lösungen bei der dritten oder vierten Ausschüttelung meistens tief braun verfärbt. Die vereinigten amylalkoholischen Lösungen werden mit entwässertem Natriumsulfat getrocknet und dann fünfmal mit je 50 ccm 10%iger Salzsäure ausgeschüttelt. Die salzsauren wässerigen Lösungen werden im Vakuum zur Trockne eingedampft, der Rückstand wird mit Alkohol extrahiert. Der nach dem Verjagen des Alkohols bleibende Rückstand wird in 5—6 ccm Wasser aufgenommen. Mit einem kleinen Teil der Lösung nehmen wir an dieser Stelle der Aufarbeitung wiederum eine Auswertung gegen Oxytyramin im Blutdruckversuch vor. — In zwei Versuchen mit Schweineniere und in zwei Versuchen mit Meerschweinchenniere waren die Lösungen jetzt pharmakologisch unwirksam. Die blutdruckwirksame Substanz war durch die chemische Aufarbeitung zerstört worden. In dem hier beschriebenen Versuch mit Schweineniere entsprach die Wirksamkeit der Lösung derjenigen von etwa 14 mg Oxytyramin.

Die Lösung wird hierauf mit Kohlensäure durchströmt und dann mit Kalilauge und Benzoylchlorid geschüttelt. Es bildet sich eine gelblich gefärbte Fällung. Diese wird gründlich mit Wasser ausgewaschen und nach dem Trocknen zur Entfernung anhaftender Benzoesäure mit Äther behandelt. Der jetzt fast weiße Rückstand wird aus heißem Toluol umkristallisiert. Er wiegt fast 13 mg.

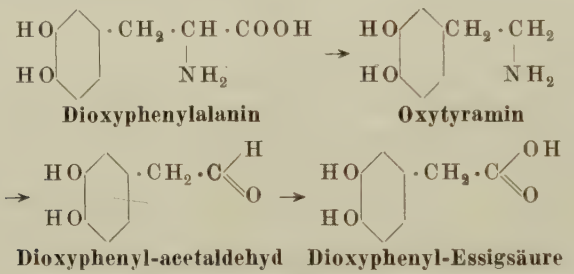
Die Substanz schmilzt bei 141°. Der Schmelzpunkt stimmt mit dem in der Literatur [8] für die Tribenzoylverbindung des Oxytyramins angegebenen überein. Der Mischschmelzpunkt mit dem aus Oxytyramin hergestellten Benzoylderivat zeigt keine Depression. — Mit dieser Methode haben wir in zwei Versuchen mit Schweineniere und in einem Versuch mit Meerschweinchenniere die Bildung von Oxytyramin nachgewiesen.

2. Oxydativer Abbau von Dioxyphenylalanin.

In einer Arbeit „Über fermentative Bildung und Zerströung von Histamin und Tyramin“ [6c] haben wir die Bedeutung des Sauerstoffs für diese beiden Vorgänge ausführlich auseinandergesetzt. Die Aminbildung aus der Aminosäure erfolgt ohne die Mitwirkung von Sauerstoff. Sie findet aber auch in Gegenwart von Sauerstoff statt, läßt sich dann im allgemeinen nur nicht nachweisen, da bei Anwesenheit von Sauerstoff die aminzerstörenden Fermente wirksam werden und das entstandene Amin schnell wieder zu pharmakologisch unwirksamen Produkten abbauen. So haben wir denn auch in der vorliegenden Arbeit, um die Umwandlung von Dioxyphenylalanin in Oxytyramin nachzuweisen, die Versuche in Stickstoffatmosphäre angesetzt.

In Auswertungsversuchen mit Meerschweinchenniere fand sich, wie schon erwähnt, daß unter diesen Bedingungen die Aminosäure fast zu 100% in das Amin übergeführt werden konnte. Da die Aminbildung auch

in Sauerstoffatmosphäre stattfindet, war im Falle des Dioxyphenylalanins auf Grund der hohen Aminbildungsquote zu erwarten, daß der oxydative Abbau dieser Aminosäure nicht oder wenigstens nicht in größerem Umfange nach dem für die nicht natürlich vorkommenden Formen der Aminosäuren geltenden Knoop-Neubauerschen Schema: Aminosäure → Iminosäure → Ketonsäure → Fettsäure erfolgte, sondern über das Amin als Zwischenstufe führte. Das erste faßbare Oxydationsprodukt wäre dann nicht die der Aminosäure entsprechende Ketonsäure gewesen, sondern hätte der um ein Kohlenstoffatom ärmere Aldehyd, in diesem Falle also Dioxyphenylacetaldehyd sein müssen, der dann seinerseits weiterhin zur Fettsäure oxydiert werden könnte. Wir haben zu beweisen versucht, daß dies der Hauptabbauweg der natürlich vorkommenden Aminosäure l-Dioxyphenylalanin ist:



Methodik.

Messung des Sauerstoffverbrauchs. Die Versuche wurden in der Warburg-Apparatur mit Atmungsgefäßen von ungefähr 15 ccm Inhalt ausgeführt. Die Versuchsgefäße enthielten einen eingeschmolzenen Einsatz, in den 0,2 ccm 10%ige Kalilauge zur Absorption der Kohlensäure eingefüllt wurde, und ein birnförmiges Anhangsgefäß. In den Hauptraum der Gläser wurden 2 ccm Nierenextrakt, der nach dem in der Methodik des ersten Abschnitts gemachten Angaben hergestellt worden war, eingefüllt und dann 2 mg Dioxyphenylalanin in 0,5 ccm destilliertem Wasser hinzugefügt. In jedem Versuch wurden Kontrollen mit Nierenextrakt allein angesetzt und ihr Sauerstoffverbrauch von demjenigen des Hauptversuchs abgezogen. Die Atmungsgefäße wurden an die Manometer angeschlossen, im Wasserthermostaten bei 38° ungefähr 5 Minuten lang bis zur Temperaturkonstanz bei offenen Hähnen gelassen und dann nach dem Schließen der Hähne geschüttelt. In manchen Versuchen waren die Gefäße mit Sauerstoff gefüllt, meistens jedoch nur mit Luft.

Messung der Kohlensäureentwicklung. Für diese Versuche wurde das zur Lösung des Dioxyphenylalanins dienende Wasser und die zur Herstellung der Extrakte benutzte Pufferlösung vorher ausgekocht. Die Versuchsgefäße waren mit reinem, über glühendes Kupfer geleitetem Stickstoff gefüllt. Die Einsätze enthielten keine Kalilauge, statt dessen bisweilen einige dünne, mit Wasser angefeuchtete Scheiben gelben Phosphor. In die Birne gaben wir 0,2 ccm 10%ige Schwefelsäure, die dann am Ende des Versuchs eingekippt wurde. Auch hier wurden Kontrollen mit Nierenextrakt allein angesetzt. Die sich aus ihnen entwickelnde Kohlensäure wurde von den Werten des Hauptversuchs in Abzug gebracht.

Oxydation von l- und d-Dioxyphenylalanin.

Wir haben zunächst Vergleichsversuche mit l- und d, l-Dioxyphenylalanin gemacht, um zu zeigen, daß der oxydative Abbau der beiden Isomeren in verschiedener Art erfolgt. Die Fermentlösungen wurden für die meisten Versuche aus Meerschweinchenniere hergestellt.

Schüttelt man Nierenextrakt mit Dioxyphenylalanin bei Sauerstoffgegenwart in der Warburg-Apparatur, so ist der Sauerstoffverbrauch in den Ansätzen mit der natürlichen l-Form der Aminosäure immer größer als in denjenigen, die das racemische Gemisch enthalten. — Bei p_H 6,2 und 6,8 sind die Unterschiede besonders deutlich (Tabelle 1, Nr. 1—4).

Tabelle 1. Oxydation von l- und d, l-Dioxyphenylalanin durch Phosphatextrakte aus Meerschweinchen-, Schweine-, Kaninchen- und Rattenniere.

Warburg-Apparatur. Die Versuchsgläser enthalten 2 ccm Nierenextrakt (1 g Organ auf 5 ccm m/10 Phosphatpuffer) und 2 mg l- bzw. d, l-Dopa in 0,5 ccm Aqua dest. — Die von den Kontrollen (Nierenextrakt + Aqua dest.) aufgenommenen Sauerstoffmengen wurden von denen des Hauptversuchs abgezogen.

Versuchs-Nr.	Tierart	p_H	Versuchszeit	cmm O_2		% d, l : l
				l-Dopa	d, l-Dopa	
1	Meerschweinchen .	6,2	240′	67	34	50
2	„ ..	6,8	100′	101	52	51
	„ ..	6,8	220′	130	75	58
3	„ ..	6,8	60′	71	37	52
	„ ..	6,8	120′	96	51	53
4	„ ..	6,8	60′	87	49	56
5	„ ..	7,4	60′	133	87	65
	„ ..	7,4	120′	[171]	[128]	74
6	Schwein	6,8	90′	96	88	92
7	„	7,4	60′	124	98	79
8	Kaninchen	7,4	90′	105	92	89
9	„	7,4	60′	62	55	88
	„	7,4	120′	99	86	86
10	Ratte	7,4	30′	14	21	
	„	7,4	105′	]37]	[62]	
11	„	7,4	30′	0	39	
	„	7,4	60′	7	64	
	„	7,4	90′	[26]	[88]	

[ ]: Nach Aufnahme der eingeklammerten O_2-Mengen waren die Lösungen braun verfärbt.

Hier wird von dem Racemat praktisch nur halb soviel Sauerstoff aufgenommen wie im Parallelversuch mit der reinen l-Form. Der Sauerstoffverbrauch durch das racemische Gemisch beruht also vermutlich lediglich auf der Oxydation der l-Form. — Bei höherem p_H, so z. B. bei p_H 7,4, ist

der Unterschied im Sauerstoffverbrauch der beiden optischen Isomeren kleiner (Tabelle 1, Nr. 5). Hier wird von der racemischen Form mehr Sauerstoff aufgenommen als der alleinigen Oxydation des im Racemat enthaltenen l-Dioxyphenylalanins entsprechen würde. Das hat seinen Grund wahrscheinlich darin, daß die Oxydation sich unter diesen Bedingungen nicht mehr auf die Seitenkette des Moleküls beschränkt, sondern auf die OH-Gruppen des Ringes übergreift, die wohl in ähnlicher oder in der gleichen Weise wie bei der im neutralen und alkalischen Milieu leicht erfolgenden Autoxydation des Dioxyphenylalanins und ähnlicher Verbindungen unter Chinonbildung und Melaninbildung oxydiert werden. Hierfür spricht die bei p_H 7,4 schon frühzeitig auftretende Braunschwarzfärbung der Versuchslösungen, die bei etwas sauerem p_H innerhalb der hier gewählten Versuchszeiten von 1—2 Stunden fast vollkommen ausbleibt.

In Versuchen mit Schweineniere und Kaninchenniere sind die Unterschiede zwischen l- und d, l-Dioxyphenylalanin niemals so deutlich wie in Versuchen mit Meerschweinchenniere (Tabelle 1, Nr. 6—9).

Phosphatextrakte aus Rattenniere wirken gerade umgekehrt wie diejenigen aus Meerschweinchenniere: Hier wird die l-Form der Aminosäure praktisch überhaupt nicht oxydiert, wohl hingegen die d-Form (Tabelle 1, Nr. 10 und 11). — Auf die Ursache für das unterschiedliche Verhalten der verschiedenen Tierarten wird später eingegangen (siehe S. 106).

Die Wirkung der Blausäure auf die Oxydation des l-Dioxyphenylalanins.

In den Mechanismus des oxydativen Abbaus des l-Dioxyphenylalanins durch Nierenextrakt erhält man Einblick durch Versuche mit Blausäure. Wenn der Abbau, wie in der Einleitung zu diesem Abschnitt angenommen, über das Amin als Zwischenstufe erfolgt, mußte die Oxydation der Aminosäure sich durch Blausäure hemmen lassen; denn Blausäure verhindert die Aminbildung fast vollständig (vgl. Abb. 4). So zeigt sich denn auch im Versuch mit Blausäure, daß schon m/1000 Konzentrationen die Sauerstoffaufnahme durch Dioxyphenylalanin stark herabsetzen (Tabelle 2, Nr. 1, 3, 4, 7a).

Andererseits ist durch die Arbeiten von Bernheim-Hare[10] über die Tyraminase und durch neuere Arbeiten[11] über den fermentativen Abbau zahlreicher anderer Amine bekannt, daß die Aminoxydase HCN-unempfindlich ist. Wir können das für Oxytyramin bestätigen. Aus dem Versuchsbeispiel (Tabelle 2, Nr. 2) geht hervor, daß die Oxydation des Oxytyramins unter dem Einfluß der im Nierenextrakt vorhandenen Aminoxydase durch die gleiche Blausäurekonzentration, welche die Oxydationsgeschwindigkeit des Dioxyphenylalanins stark herabsetzt, praktisch voll-

[10] Bernheim-Hare, M. L. C.: Biochem. J. **22**, 968 (1928); J. of biol. Chem. **93**, 299 (1931). — [11] Blaschko, H., D. Richter u. H. Schlossmann: Biochem. J. **31**, 2187 (1937).

kommen unbeeinflußt bleibt. — Wenn der Hauptweg des fermentativen Abbaus von l-Dioxyphenylalanin über die intermediäre Entstehung von Oxytyramin führt, dürfte Blausäure nicht mehr oxydationshemmend wirken, wenn man vor dem Blausäurezusatz der Aminosäure Gelegenheit gab, in das Amin überzugehen. Wir geben dem Dioxyphenylalanin Gelegenheit, sich in Oxytyramin umzuwandeln, indem wir Nierenextrakt 1—2 Stunden lang auf Dioxyphenylalanin in Stickstoffatmosphäre einwirken lassen. Dann bringen wir den Versuchsansatz in die Atmungs-

Tabelle 2. Die Wirkung der Blausäure und des Octylalkohols auf den oxydativen Abbau von l-Dioxyphenylalanin und Oxytyramin.

Warburg-Apparatur. Die Versuchsgläser enthalten 2 ccm Nierenextrakt (1 g Organ auf 5 ccm m/20 Kaliumphosphat, p_H 7,4) und 2 mg l-Dopa bzw. Oxytyramin in 0,5 ccm Aqua dest. — KCN: 0,25 ccm m/100 KCN. — Octylalkohol: 0,01 ccm pro Glas.

Versuchs-Nr.	Tierart	Substrat	Versuchszeit	cmm O_2 ohne KCN	cmm O_2 mit KCN	cmm O_2 ohne Octylalk.	cmm O_2 mit Octylalk.	Hemmung in %	Bemerkungen
1	Meerschweinchen	l-Dopa	90′	148	27			82	
			90′	146	132			10	Vorher 1½ Std. in N_2
2	Meerschweinchen	Oxytyramin	60′	95	81			15	
3	Meerschweinchen	l-Dopa	60′	109	20			82	
			60′	115	93			20	Vorher 2 Std. in N_2
4	Meerschweinchen	l-Dopa	60′	111	23			80	
			60′	104	78			25	Vorher 2 Std. in N_2
5	Schwein	l-Dopa	60′			124	29		
			60′			99	4		Vorher 2 Std. in N_2
6	Meerschweinchen	Oxytyramin	75′			133	21		
7a	Schwein	l-Dopa	120′	153	44				
			120′	158	129				Vorher 1½ Std. in N_2
7b			120′			153	24		
			120′			158	31		Vorher 1½ Std. in N_2

gefäße der Warburg-Apparatur, setzen KCN zu und schütteln in Luft- oder Sauerstoffatmosphäre. Der jetzt erfolgende oxydative Abbau ist blausäureunempfindlich, die Oxydation verläuft bei Anwesenheit von Blausäure in gleicher Weise wie im Kontrollansatz ohne Blausäure (Tabelle 2, Nr. 1, 3, 4, 7a).

Der fermentative Abbau der natürlich vorkommenden Aminosäure l-Dioxyphenylalanin erfolgt demnach in zwei Stufen: 1. Decarboxylierung zum Amin durch eine Aminosäurendecarboxylase, 2. Oxydation des Amins durch eine Aminoxydase. Die Decarboxylase ist HCN-empfindlich, die Aminoxydase nicht.

Oxydation von l-Dioxyphenylalanin zu Dioxyphenyl-acetaldehyd.

Da die Oxydation des l-Dioxyphenylalanins erst nach erfolgter Umwandlung der Aminosäure in das Amin stattfindet, kann, wie wir schon kurz auseinandersetzten, das erste faßbare Oxydationsprodukt nur der Aldehyd sein. Daß das der Fall ist, wird schon durch das Ergebnis von Versuchen wahrscheinlich, in denen ein Teil der Versuchsansätze mit einem Abfangmittel für Aldehyde versetzt wurde. Wir geben zu mehreren der mit Nierenextrakt und Dioxyphenylalanin beschickten Versuchsgläser in der Warburg-Apparatur Semicarbazid, so daß dieses in m/20 Konzentration vorliegt. Vergleichen wir jetzt den Sauerstoffverbrauch der semi-

Tabelle 3. Die Wirkung von Semicarbazid auf die Oxydation von l-Dioxyphenylalanin durch Nierenextrakt.

Warburg-Apparatur. Die Versuchsgläser enthalten 2 ccm Nierenextrakt (p_H 7,4) und 2 mg l-Dopa in 0,5 ccm Aqua dest. — Semicarbazid: 0,25 ccm m/2 Lösung in Aqua dest.

Versuchs-Nr.	Tierart	Versuchszeit	cmm O_2	
			ohne Semicarbazid	mit Semicarbazid
1	Meerschweinchen	120′	140	75
	„	240′	201	134
2	Meerschweinchen ..... (1 ccm Nierenextrakt)	60′	73	35
	„	120′	131	70
	„	165′	161	90
3	Meerschweinchen	30′	89	47
	„	90′	162	102
4	Schwein	60′	80	46
	„	120′	118	76

carbazidhaltigen Lösungen mit demjenigen der ohne Semicarbazid angesetzten Kontrollen, so finden wir ihn bei $1-1^1/_2$stündiger Versuchsdauer nur ungefähr halb so groß (Tabelle 3). Im Ansatz mit Semicarbazid wird 1 Atom Sauerstoff pro Molekül Amin aufgenommen und dieses in den Aldehyd übergeführt, bei Abwesenheit von Semicarbazid geht ein Teil des Aldehyds unter Aufnahme eines weiteren Atoms Sauerstoff in die Fettsäure über, so daß in diesen Ansätzen mehr als 1 Atom Sauerstoff pro Molekül Amin verbraucht wird. — Bei längerer Versuchsdauer verwischen sich die Unterschiede zwischen den semicarbazidfreien und semicarbazidhaltigen Ansätzen, weil dann in beiden die unter Verfärbung der Lösungen erfolgende Oxydation an den OH-Gruppen des Ringes sich bemerkbar macht.

Wir haben versucht, den Dioxyphenylacetaldehyd zu isolieren und zu identifizieren. Wir geben in drei große Versuchsgläser der Warburg-

Apparatur von ungefähr 30 ccm Inhalt je 5 ccm Phosphatextrakt aus Meerschweinchenniere, 20 mg l-Dioxyphenylalanin in 2 ccm Aqua dest. und 0,7 ccm m/2 Semicarbazid. Nach $1^1/_2$—2stündigem Schütteln bei 38° nehmen die Lösungen einen leicht braunen Farbton an. Wir brechen den Versuch ab, bringen die Versuchslösungen mit wenig Salzsäure auf p_H 5, kochen kurz auf, filtrieren und versetzen das klare Filtrat nach dem Abkühlen mit einer kalt gesättigten Lösung von 3, 4-Dinitrophenylhydrazin in 2/n HCl. In wenigen Sekunden tritt eine starke gelbe Trübung auf. Nach 1—2stündigem Aufenthalt der Versuchslösungen im Eisschrank zentrifugieren wir und gießen vom Bodensatz ab. Dieser wird mit wenig 2/n HCl gewaschen. Beim Stehen geht seine zunächst hellgelbe Farbe sehr schnell in Braunrot bis Braunschwarz über. Es ist uns nicht gelungen, das Phenylhydrazon aus irgendeinem organischen Lösungsmittel (Alkohol, Chloroform, Benzin, Toluol) kristallisiert zu erhalten. Die Stickstoffanalyse des rohen amorphen Produktes ergibt

3,111 mg Substanz: 0,467 ccm N_2 (30°, 749 mm) (Dr. Schoeller).
$C_{14}H_{12}O_6N_4$: Ber. N_2 18,88 %, gef. 18,19 %.

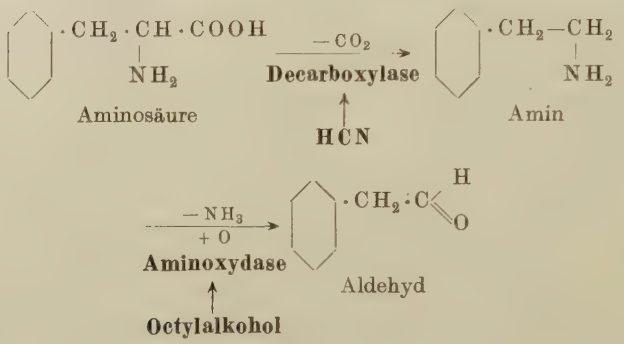
Die Wirkung des Octylalkohols auf die Oxydation des l-Dioxyphenylalanins.

Zu mehreren Versuchsansätzen mit Nierenextrakt und l-Dioxyphenylalanin geben wir 0,01 ccm Octylalkohol und schütteln in der Warburg-Apparatur. Octylalkohol hemmt die Sauerstoffaufnahme stark, noch stärker als Blausäure in der von uns angewandten Konzentration (Tabelle 2, Nr. 7).

Die hemmende Wirkung der Blausäure konnten wir darauf zurückführen, daß in dem Fermentsystem der Niere, welches den Abbau des Dioxyphenylalanins besorgt und aus einer Decarboxylase und einer Aminoxydase besteht, die Decarboxylase durch Blausäure blockiert wird und damit dem eigentlich oxydierenden Ferment sein Substrat nicht liefern kann. Diese Erklärung kann für die Hemmungswirkung des Octylalkohols nicht zutreffen. Denn, wie aus den Versuchen am biologischen Testobjekt hervorgeht (s. S. 92 und Abb. 4), wird die Wirksamkeit der aminbildenden Decarboxylase durch Octylalkohol nicht im geringsten beeinträchtigt; im Gegenteil ist in Versuchen mit Octylalkohol die Aminausbeute meistens sogar größer als in Versuchen ohne Octylalkohol.

Die Hemmungswirkung des Octylalkohols erstreckt sich denn auch im Gegensatz zu derjenigen der Blausäure auf die Oxydation des Oxytyramins und bleibt dementsprechend in den Versuchen mit Nierenextrakt und Dioxyphenylalanin auch dann noch bestehen, wenn man die Versuchsansätze vorher für 1—2 Stunden in Stickstoffatmosphäre beläßt und damit den größten Teil der Aminosäure in das Amin überführt. (Tabelle 2, Nr. 5, 6, 7b.) — Octylalkohol hemmt den oxydativen Abbau des Dioxy-

phenylalanins dadurch, daß er die Wirksamkeit des eigentlich oxydierenden Ferments, der Aminoxydase, stark herabsetzt und damit die Oxydation des auch in seiner Gegenwart entstehenden Amins zum Aldehyd verhindert. Das folgende Reaktionsschema zeigt die verschiedenen Angriffspunkte der oxydationshemmenden Wirkung von Blausäure und Octylalkohol:



Dieser Angriffspunkt des Octylalkohols erklärt dann auch die sonst nur schwer verständliche Tatsache, daß bei Versuchen mit Nierenextrakt und Dioxyphenylalanin in Stickstoffatmosphäre die Ausbeute an Amin bei Anwesenheit von Octylalkohol meistens höher gefunden wird als in den octylalkoholfreien Kontrollen. Trotz der Durchströmung der Versuchslösungen mit Stickstoff gelingt es anscheinend nicht immer, die oxydative Zerstörung entstandenen Oxytyramins gänzlich zu verhindern, was dann durch den Zusatz von Octylalkohol möglich wird.

Decarboxylase und Aminoxydase.

Von diesen beiden, den Abbau des l-Dioxyphenylalanins besorgenden Fermenten ist das eine, die Aminoxydase, auf die Tätigkeit des anderen, der Decarboxylase, angewiesen. Man könnte die Decarboxylase als den Schrittmacher der Aminoxydase bezeichnen. Die Aminoxydase kann nur in dem Maße wirken, in dem ihr von der Decarboxylase ihr Substrat, das Amin, geliefert wird. Einen Einblick in dieses Abhängigkeitsverhältnis geben insbesondere unsere Versuche mit Blausäure. Sie ermöglichen jedoch keine quantitative Erfassung der beiden Fermentwirkungen und ihrer Beziehungen zueinander. Diese erreichen wir, indem wir als Kriterium der Fermentwirkung nicht wie bisher die Bildung des Amins durch die Decarboxylase und die Bildung des Aldehyds durch die Aminoxydase nehmen, sondern statt dessen zwei manometrisch meßbare Vorgänge, welche der fermentativen Bildung des Amins und des Aldehyds zugrunde liegen: Die Abspaltung von 1 Molekül Kohlensäure pro Molekül Aminosäure durch die Decarboxylase, und die durch die Aminoxydase veranlaßte Aufnahme von 1 Atom Sauerstoff pro Molekül Amin. Wenn der oxydative Abbau

des Dioxyphenylalanins durch das aus Decarboxylase und Aminoxydase bestehende Fermentsystem des Nierenextrakts bewerkstelligt wird, muß doppelt soviel Kohlensäure abgegeben wie Sauerstoff aufgenommen werden.

Die Durchführung dieser Versuche wird dadurch erschwert, daß die im System „Nierenextrakt + l-Dopa" stattfindende Oxydation keinen scharfen Endpunkt zeigt, wenn 1 Atom Sauerstoff pro Molekül Aminosäure aufgenommen worden und damit die Oxydationsstufe des Aldehyds erreicht ist. Die Ursache hierfür liegt darin, daß einerseits der entstandene Aldehyd zum Teil weiter oxydiert wird und andererseits die spontane oder durch eine im Nierenextrakt wahrscheinlich enthaltene Phenoloxydase veranlaßte Oxydation der OH-Gruppen des Ringes eine, wenn auch langsam erfolgende, so doch fortschreitende Sauerstoffaufnahme bedingt. Die auf der Weiteroxydation des Aldehyds beruhende zusätzliche Sauerstoffaufnahme verhindern wir durch Zusatz von Semicarbazid. Die auf der Oxydation am Ring beruhende Sauerstoffaufnahme kann jedoch durch sonst hierzu geeignete Mittel wie Blausäure oder besser noch Ascorbinsäure + Blausäure in diesem Falle nicht ausgeschaltet werden, da hiermit gleichzeitig die Decarboxylierung zum Amin und damit die oxydative Bildung des Aldehyds verhindert würde. Immerhin scheint die Oxydation an den OH-Gruppen des Ringes nur langsam vor sich zu gehen und sich erst bemerkbar zu machen, wenn die Oxydation der Aminosäure zum Aldehyd größtenteils schon erfolgt ist. Wir setzen deshalb den Versuchslösungen Semicarbazid zu und nehmen als Kriterium für die beendete Oxydation der Seitenkette die beginnende Verfärbung der Versuchsansätze.

Lesen wir in diesem Zeitpunkt den Sauerstoffverbrauch ab, so finden wir ihn wenigstens annähernd halb so groß wie die im Parallelversuch abgespaltene Kohlensäuremenge (Tabelle 4, Nr. 1 und 2). Hierdurch wird es sehr wahrscheinlich, daß an der Seitenkette des l-Dioxyphenylalanins nur in dem Maße oxydiert wird, in dem vorher decarboxyliert worden ist, d. h. daß der oxydative Abbau der Aminosäure quantitativ über das Amin als Zwischenstufe erfolgt.

Die manometrisch gemessenen Mengen der abgespaltenen Kohlensäure bestätigen einige im ersten Abschnitt der Arbeit mitgeteilte, am biologischen Testobjekt erhobene Befunde. Auswertungsversuche hatten ergeben, daß l-Dioxyphenylalanin unter günstigen Bedingungen von Meerschweinchenniere bis zu 90% in Oxytyramin umgewandelt werden konnte. Legt man die im Versuch 1 und 3 der Tabelle 4 gemessenen CO_2-Mengen (186 und 196 cmm) der Berechnung zugrunde, wie groß die hier aus 2 mg l-Dopa erfolgte Kohlensäureabspaltung im Verhältnis zu der theoretisch zu erwartenden (224 cmm) ist, so ergibt sich, daß sie 83—88% beträgt. Weiterhin zeigt sich wie im biologischen Versuch (vgl. S. 92, Abb. 3A), so auch in den manometrischen Versuchen sehr deutlich die optische Spezifität der Decarboxylasewirkung: Im Versuch mit d, l-Dopa wird nur aus der natürlichen l-Form Kohlensäure abgespalten (Tabelle 4, Nr. 1).

Eine weitere Stütze für die Richtigkeit der Vorstellung, daß die Aminosäure l-Dioxyphenylalanin erst nach Umwandlung in das Amin oxydiert wird, findet sich in den Ergebnissen von Vergleichsversuchen über Kohlensäureabspaltung und Sauerstoffaufnahme in Nierenextrakten verschiedener Tierarten. Die im ersten Teil der Arbeit mitgeteilten pharmakologischen Versuche hatten gezeigt, daß bei den einzelnen Tierarten große

Tabelle 4. Decarboxylase und Aminoxydase. CO_2-Abspaltung aus l-Dopa durch Nierenextrakte verschiedener Tierarten.

Warburg-Apparatur. Die Versuchsgläser enthalten 2 ccm Nierenextrakt (1 g Niere auf 5 ccm m/10 Phosphatpuffer, p_H 7,4) und 2 mg l-Dopa in 0,5 ccm Aqua dest. — Die Werte der Kontrollen (Nierenextrakt + Aqua dest.) sind von denen der Hauptversuche abgezogen.

Versuchs-Nr.	Versuchszeit	Substrat	Tierart	cmm CO_2	cmm O_2	Bemerkungen
1	65′	2 mg **l**-Dopa	Meerschweinchen 2 ccm Extrakt	186	98	Beginnende Verfärbung
	65′	2 mg **d,l**-Dopa	Meerschweinchen 2 ccm Extrakt	86		
2	40′	2 mg l-Dopa	Meerschweinchen	170	47	Keine Verfärbung
	90′	2 mg l-Dopa	Meerschweinchen	176	110	Deutliche Verfärbung
3	60′	l-Dopa	Meerschweinchen	196		
	60′	l-Dopa	Schwein 2 ccm Extrakt	114 (58 %) *		
4	60′	l-Dopa	Meerschweinchen 1 ccm Extrakt	121		
	60′	l-Dopa	Kaninchen 1 ccm Extrakt	23 (19 %) *		
	60′	l-Dopa	Ratte 1 ccm Extrakt	0		

* Die %-Zahlen geben das Verhältnis der bei der betreffenden Tierart gemessenen Kohlensäurewerte zu der von Meerschweinchenniere aufgenommenen Kohlensäuremenge in Prozenten an.

Unterschiede im Gehalt der Niere an Decarboxylase bestehen. Es hatte sich nach abnehmender Wirksamkeit die Reihenfolge Meerschweinchen —Schwein—Kaninchen—Ratte aufstellen lassen. Dieselbe Reihenfolge ergibt sich, wenn wir als Kriterium der Decarboxylasewirkung nicht die Bildung des Amins, sondern die Abspaltung von Kohlensäure nehmen (Tabelle 4, Nr. 3 und 4). Auf die Wirksamkeit der Meerschweinchenniere bezogen, beträgt diejenige der Schweineniere ungefähr 60 %, diejenige der Kaninchenniere fast 20 %. Rattenniere spaltet keine Kohlensäure aus l-Dopa ab, wie ja auch in den meisten biologischen Versuchen mit

Phosphatextrakten aus Rattenniere keine nachweisbaren Mengen Amin gebildet wurden.

Wir vergleichen jetzt die Oxydationsgeschwindigkeiten von l-Dopa im Nierenextrakt der vier untersuchten Tierarten (Tabelle 5). Sie betragen, auf die für Meerschweinchenniere gefundene bezogen, für Schweineniere: 58, 50, 63 %; für Kaninchenniere: 18, 23, 26 %; für Rattenniere: 0 %. Sie stimmen also praktisch mit dem prozentualen Verhältnis

Tabelle 5. Decarboxylase und Aminoxydase. Oxydation von l-Dopa und Oxytyramin durch Nierenextrakte verschiedener Tierarten.

Warburg-Apparatur. Die Versuchsgläser enthalten: 2 ccm Nierenextrakt (1 g Organ auf 5 ccm m/20 Phosphatlösung, p_H 7,4) und 2 mg l-Dopa bzw. Oxytyramin in 0,5 ccm Aqua dest. — Die von den Kontrollen (Nierenextrakt + Aqua dest.) aufgenommenen O_2-Mengen wurden in Abzug gebracht. — Die %-Zahlen geben das Verhältnis der bei der betreffenden Tierart gemessenen Sauerstoffwerte zu den von Meerschweinchenniere aufgenommenen Sauerstoffmengen in Prozenten an.

Versuchs-Nr.	Versuchszeit	Substrat	O_2-Aufnahme in cmm			
			Meerschweinchen	Schwein	Kaninchen	Ratte
1a	60′	ohne Zusatz	35			38
b	60′	2 mg l-Dopa	149*			33*
c	60′	2 mg Oxytyramin	141*			39*
2	30′	2 mg l-Dopa	127		23 (18%)	0
	60′	„	[136]		[45]	[29]
3	90′	2 mg l-Dopa	[105]			[17]
4	60′	„	102	59 (58%)		0
5	90′	„	[146]	72 (50%)		
6a	20′	2 mg l-Dopa	87	55 (63%)	20 (23%)	0
	45′	„	153	107 (70%)	40 (26%)	2
b	20′	2 mg Oxytyramin	75	48 (64%)	18 (24%)	3
	45′	„	133	[96] (72%)	41 (30%)	5

* Die von den Kontrollen aufgenommenen O_2-Mengen (35 bzw. 38 cmm) sind nicht in Abzug gebracht.

[ ]: Nach Aufnahme der eingeklammerten O_2-Mengen waren die Lösungen braun verfärbt.

überein, in welchem im Nierenextrakt der betreffenden Tierarten Kohlensäure abgespalten wird. — Auch aus diesen Versuchsergebnissen folgt demnach, daß die Aminosäure in dem Verhältnis oxydiert wird, in dem ihre Umwandlung in das Amin erfolgt. Das wird vielleicht besonders deutlich durch die Versuche mit Rattenniere: Phosphatextrakt aus Rattenniere decarboxyliert nicht, oxydiert aber auch nicht.

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse läßt sich jetzt auch die Erklärung für das unterschiedliche Verhalten der einzelnen Tierarten in den Versuchen mit l- und d, l-Dopa geben (siehe S. 97, Tabelle 1). Von Meerschweinchenniere wurde nur die l-Form oxydiert, von Rattenniere

nur die d-Form. In Versuchen mit Schweine- und Kaninchenniere zeigten sich keine deutlichen Unterschiede zwischen l- und d-Dopa.

Die Meerschweinchenniere enthält mehr Decarboxylase als die Niere aller anderen untersuchten Tierarten. Dementsprechend bildet sie große Mengen Amin, das dann durch die Aminoxydase oxydiert wird. Der Gehalt der Meerschweinchenniere an d-Desaminase, dem auf die Aminosäuren der d-Reihe eingestellten Oxydationsferment, scheint nur gering zu sein. Da andererseits die Decarboxylase nur aus der l-Form Amin bildet, kann nur diese oxydiert werden. — Bei der Rattenniere liegen die Verhältnisse gerade umgekehrt. Sie enthält keine Decarboxylase und bildet dementsperchend kein Amin: l-Dopa kann nicht oxydiert werden. Die Rattenniere ist aber auf der anderen Seite besonders reich an d-Desaminase. Das geht aus den Untersuchungen von Krebs[1] hervor, der für seine Versuche über den Abbau der nicht natürlich vorkommenden, der d-Reihe angehörenden Aminosäuren in den meisten Fällen gerade Rattenniere wegen ihres hohen Gehaltes an d-Desaminase benutzte. In unseren Versuchen mit Rattenniere wird deshalb praktisch nur die d-Form des Dioxyphenylalanins oxydiert. — Schweine- und Kaninchenniere schließlich enthalten im Vergleich mit Meerschweinchenniere nur 60 bzw. 20% Decarboxylase. Da wir nicht die reine d-Form des Dioxyphenylalanins, sondern nur das racemische Gemisch benutzen konnten, stand damit der Decarboxylase der Schweine- und Kaninchenniere in diesen Ansätzen halb soviel l-Dopa zur Verfügung wie im Vergleichsversuch mit der reinen l-Form. Da selbst Meerschweinchenniere die angebotene Substratmenge bestenfalls bis zu 90% umsetzte, mußte im Versuch mit Schweine- und Kaninchenniere bei dem hier ja nur halb so großen bzw. noch geringeren Fermentgehalt die Hälfte der für die Decarboxylase angreifbaren, im Racemat enthaltenen l-Form genügen. Der Sauerstoffverbrauch wurde deshalb auch durch das doppelt so hohe Angebot an Substrat aus Mangel an Ferment nicht nennenswert erhöht. Der Gehalt der Niere an d-Desaminase muß bei den beiden Tierarten sehr gering sein, so daß es zu keiner ins Gewicht fallenden Oxydation der d-Form kommt.

Aus der Übereinstimmung des Verhältnisses von Decarboxylierung und Oxydation bei den einzelnen Tierarten ergibt sich die Forderung, daß die Niere jeder Tierart mindestens soviel Oxydationsferment, d. h. Aminoxydase enthalten muß, wie sie Decarboxylase besitzt. Denn sonst würde ja das durch die Tätigkeit der Decarboxylase anfallende Substrat nicht quantitativ umgesetzt werden können. Wir haben deshalb Nierenextrakte auf Oxytyramin bei Sauerstoffgegenwart einwirken lassen und den Sauerstoffverbrauch gemessen (Tabelle 5, Nr. 1c und 6d). Wiederum auf den Gehalt der Meerschweinchenniere an Aminoxydase bezogen, finden wir für Schweineniere 64%, für Kaninchenniere 24%, für Rattenniere 0%, praktisch also die gleiche prozentuale Verteilung, wie sie sich für den Gehalt an Decarboxylase ergab.

Das Ergebnis dieser Versuche, das in der Tabelle 6 zusammengestellt ist, zeigt einmal, daß die Niere der untersuchten Tierarten genügende Mengen Aminoxydase enthält, um das von der Decarboxylase gelieferte Substrat zu oxydieren (Tabelle 6, Reihe 1 und 2). Sodann aber besagt es, daß in der Niere jeder Tierart Decarboxylase und Aminoxydase mengen- bzw. wirkungsmäßig so aufeinander abgestimmt sind, daß die wirksamen Mengen, in denen die beiden Fermente vorliegen, gleich sind. Das legt die

Vermutung nahe, daß die Decarboxylase und die Aminoxydase im physiologischen Geschehen eine funktionelle Einheit sind, Bruchstücke vielleicht eines einheitlichen Ferments der Zelle: der „l-Aminosäurendesaminase" (Tabelle 6, Reihe 3).

Tabelle 6. Prozentualer Gehalt der Niere verschiedener Tierarten an Decarboxylase und Aminoxydase.

CO_2-Bildung aus l-Dopa und O_2-Aufnahme durch l-Dopa und Oxytyramin im Nierenextrakt verschiedener Tierarten: Ausgedrückt in % der für Meerschweinchenniere gefundenen Werte.

Versuchs-Nr.	Substrat	Meerschweinchen %	Schwein %	Kaninchen %	Ratte %	Art der Fermentwirkung
1	CO_2-Bildung aus l-Dopa	100	60	20	0	Decarboxylase
2	O_2-Aufnahme durch Oxytyramin	100	64	24	0	Aminoxydase
3	O_2-Aufnahme durch l-Dopa	100	58, 50, 63	18, 23, 26	0	Decarboxylase + Aminoxydase = „l-Aminosäurendesaminase"

Decarboxylase + Aminoxydase, l-Desaminase und d-Desaminase.

In der Einleitung haben wir darauf hingewiesen, daß nach den Untersuchungen von Krebs die l-Desaminase sich von der d-Desaminase in wesentlichen Punkten unterscheidet. Neben der hemmenden Wirkung der Blausäure und des Octylalkohols auf die l-Desaminase, die eine funktionelle Trennung der beiden Fermente ermöglichte, scheint für die Aufklärung etwa bestehender Beziehungen zwischen der l- und d-Desaminase, wie auch von Krebs betont wird, vielleicht von besonderer Bedeutung zu sein, daß die l-Desaminase bisher stets mit der d-Desaminase vergesellschaftet gefunden wurde und niemals frei von d-Desaminase erhalten werden konnte. Krebs erörtert direkt die Möglichkeit, daß die d-Desaminase durch einen noch unbekannten zusätzlichen Faktor zum l-Enzym komplettiert werden könnte. Dieser zusätzliche Faktor wird charakterisiert als eine Substanz, „which reacts with l-amino-acids and enables them to react in the same way as d-amino-acids react by themselves without an auxiliary substance".

Es liegt nahe, auf dem Boden dieser Gedankengänge eine Deutung unserer Untersuchungsergebnisse zu versuchen. Das im Nierenextrakt vorhandene, l-Dioxyphenylalanin abbauende Fermentsystem hat wesentliche Eigenschaften mit der l-Desaminase gemeinsam: Wie diese wird es durch Blausäure und Octylalkohol gehemmt, wie die l-Desaminase kann es wenigstens bisher nicht frei von d-Desaminase erhalten werden, und

schließlich setzt es sich, wie das auch von der l-Desaminase vermutet wird, aus zwei Komponenten zusammen. Diese sind eine Decarboxylase und eine Aminoxydase. Wir haben begründet, weshalb man die Decarboxylase als den Schrittmacher der Aminoxydase bezeichnen könnte. Im Sinne der Krebsschen Formulierung würde sie der „additional factor" oder die „auxiliary substance" der l-Desaminase sein können.

Der hypothetische „additional factor" von Krebs soll in Verbindung mit der d-Desaminase das Ferment bilden, welches die Aminosäuren der l-Reihe oxydativ desaminiert, die l-Desaminase. Wir finden, daß die Decarboxylase mit einer Aminoxydase ein Fermentsystem bildet, welches l-Dioxyphenylalanin unter oxydativer Desaminierung abbaut. Wenn deshalb der „additional factor" von Krebs mit unserer Decarboxylase identisch wäre, dann müßte die d-Desaminase mit der Aminoxydase identisch sein. Es würde sich die Gleichung ergeben:

$$\text{l-Desaminase} = \underset{\text{(additional factor)}}{\text{Decarboxylase}} + \underset{\text{(d-Desaminase)}}{\text{Aminoxydase}}.$$

Gegen die Richtigkeit dieser Gleichung lassen sich zwei Einwände erheben. Der eine Einwand betrifft den fermentativen Reaktionsmechanismus. Sowohl für die Aminosäuren der l-Reihe als für diejenigen der d-Reihe nimmt Krebs den gleichen Abbaumechanismus an und schreibt damit den beiden entsprechenden Fermenten, der l- und d-Desaminase, den gleichen Wirkungsmechanismus zu. Dieser ist dadurch charakterisiert, daß die Aminosäure durch Aufnahme eines Atoms Sauerstoff und Abspaltung eines Moleküls Ammoniak in die Ketonsäure übergeht. Ein Fermentsystem, daß sich aus Decarboxylase und Aminoxydase zusammensetzt, kann aber aus der Aminosäure nicht die Ketonsäure bilden, sondern nur den Aldehyd, wie wir das ja auch für l-Dioxyphenylalanin finden. — Hierzu ist jedoch folgendes zu bemerken: Krebs hat die Ketonsäurebildung aus der Aminosäure zwar nicht nur aus dem Quotienten „aufgenommener Sauerstoff : abgespaltenes Ammoniak" erschlossen, sondern für eine ganze Anzahl von Aminosäuren durch die chemische Isolierung und Identifizierung der entsprechenden Ketonsäuren direkt bewiesen. Dieser Beweis wurde aber, soweit wir aus den Versuchsprotokollen der Krebsschen Arbeit ersehen, nur in Versuchen mit den nicht natürlich vorkommenden Aminosäuren der d-Reihe bzw. mit racemischen Gemischen geführt, wohl mit Rücksicht auf den zu geringfügigen Umsatz der meisten natürlich vorkommenden Aminosäuren. Für diese wurde das Verhältnis zwischen aufgenommenem Sauerstoff und abgespaltenem Ammoniak und seine Übereinstimmung mit dem bei den Aminosäuren der d-Reihe ermittelten O_2/NH_3-Quotienten als Kriterium und Beweis für die Bildung der Ketonsäure genommen. Dieser Quotient ist aber kein Beweis für den Abbau der Aminosäure zur Ketonsäure, denn er müßte ja auch gefunden werden, wenn die Aminosäure über das Amin zum Aldehyd

abgebaut wird. — Deshalb scheint uns der hier besprochene Einwand, den man gegen die Richtigkeit der oben aufgestellten Gleichung erheben könnte, nicht stichhaltig, wenigstens bisher nicht experimentell begründet zu sein.

Der andere Einwand betrifft die mit der Aufstellung der obigen Gleichung geforderte Identität von Aminoxydase und d-Desaminase. Diese Frage ist in anderem Zusammenhang schon von Pugh und Quastel[12] in einer vor kurzem erschienenen Arbeit erörtert worden. Die Autoren kommen zu dem Ergebnis, daß Aminoxydase und d-Desaminase nicht identisch sind, sondern zwei verschiedene Fermente sein müssen. Ihre Ansicht gründet sich auf folgende experimentelle Befunde. In Versuchen mit Gewebsschnitten fand sich, daß nicht nur Leber- und Nierengewebe, sondern auch Gehirngewebe Amine oxydativ desaminieren kann. In einem Vergleichsversuch lassen die Autoren nun Gewebsschnitte aus Rattengehirn das eine Mal auf Isopropylamin, das andere Mal auf d, l-Alanin einwirken. Das Amin wird oxydiert, die Aminosäure nicht. Die Aminoxydase soll deshalb mit der Aminosäurendesaminase nicht identisch sein können. — Diese Beweisführung ist jedoch nicht zwingend; denn die untersuchte Aminosäure entspricht nicht dem untersuchten Amin. Das vom Alanin sich ableitende Amin ist Äthylamin, die dem Isopropylamin entsprechende Aminosäure würde die α-Aminobuttersäure sein. Blaschko, Richter und Schlossmann[11] haben die in Leber-, Nieren- und Darmextrakten enthaltenen Aminoxydasen auf eine große Anzahl verschiedener Amine einwirken lassen und dabei beobachtet, daß derselbe Gewebsextrakt, der gewisse Amine, wie z. B. Phenyläthylamin, 50- bis 100%ig abbaut, andere Amine, unter ihnen gerade Äthylamin, überhaupt nicht nachweisbar angreift. Andererseits geht aus den Untersuchungen von Krebs über den fermentativen Abbau der d-Aminosäuren hervor, daß auch zwischen den einzelnen Vertretern dieser Körperklasse große quantitative Unterschiede bestehen.

Wir haben deshalb, um die Frage nach der Identität von d-Desaminase und Aminoxydase zu klären, Präparate von d-Desaminase aus Niere auf einige Aminosäuren und die diesen entsprechenden Amine einwirken lassen. Hierzu nahmen wir das bisher reinste, uns zur Verfügung stehende Präparat, das durch Extraktion des Acetontrockenpulvers gewonnen wird.

Frische Schweineniere wird im Mörser mit Quarzsand verrieben, der Brei mit der 10fachen Menge Aceton versetzt, 5 Minuten lang unter wiederholtem Umschütteln bei Zimmertemperatur stehen gelassen und dann abgenutscht. Der Filterrückstand wird nochmals in der 5fachen Menge Aceton aufgeschwemmt, auf einer Nutsche scharf abgesaugt und dann zum Trocknen auf Filtrierpapier ausgebreitet. Nach dem Trocknen wird er im Mörser staubfein zerrieben. 1 g Trockenpulver wird mit 50 ccm m/20 Phosphatpuffer vom p_H 7,4 versetzt und unter mehrfachem Umschütteln 15 Minuten lang extrahiert. Jetzt wird 5 Minuten lang zentrifugiert, und die überstehende klare Lösung, die leicht gelbrot gefärbt ist, als Fermentpräparat zum Versuch benutzt. — 2 ccm der Fermentlösung werden in die Versuchs-

[12] Pugh u. Quastel: Biochem. J. **31**, 286 (1937).

gefäße der Warburg-Apparatur eingefüllt, mit 2 mg Aminosäure bzw. Amin in 0,5 ccm Aqua dest. versetzt und bei 37° geschüttelt. Im Einsatz 0,2 ccm 10%ige Kalilauge.

Die Tabelle 7 enthält die Ergebnisse von Versuchen mit den Aminosäuren d, l-Alanin und d, l-Dioxyphenylalanin sowie mit den entsprechenden Aminen Äthylamin und Oxytyramin. Vergleichsversuche mit l- und dl-Dopa zeigen, daß nur die d-Form durch das im Extrakt enthaltene

Tabelle 7. d-Desaminase und Aminoxydase.

Warburg-Apparatur. Die Versuchsgläser enthalten: 2 ccm Phosphatextrakt (m/20, p_H 7,4) von Acetontrockenpulver aus Schweineniere und 1 ccm wässerige Lösung von Aminosäure oder Amin. (Einzelheiten über die Herstellung der Extrakte siehe Text, S. 109). — Phosphatextrakt allein nahm im allgemeinen keinen Sauerstoff auf; anderenfalls wurde die von ihm aufgenommene Sauerstoffmenge von derjenigen des Hauptversuchs abgezogen.

Versuchs-Nr.	Versuchszeit	Substrat	cmm O_2	Versuchs-Nr.	Versuchszeit	Substrat	cmm O_2
1	100′	d, l-Alanin (5 mg)	222	3	120′	l-Dopa (4 mg)	0
	100′	Äthylamin (5 „)	0		120′	d, l-Dopa (4 „)	65
2	90′	d, l-Alanin (2 „)	80	4	150′	l-Dopa (4 „)	0
	90′	Äthylamin (2 „)	2		150′	Oxytyramin (4 „)	2
	90′	d, l-Dopa (4 „)	57		150′	d, l-Dopa (4 „)	94
	90′	Oxytyramin (4 „)	3				

Ferment oxydiert wird. Die d-Aminosäuren werden kräftig oxydiert, in den aminhaltigen Ansätzen findet nicht die geringste Sauerstoffaufnahme statt. Die d-Aminosäurendesaminase kann deshalb mit der Aminoxydase nicht identisch sein.

Hieraus folgt, daß die von Krebs diskutierte Hypothese: „l-Desaminase = additional factor + d-Desaminase“ wenigstens für die beim Abbau des l-Dioxyphenylalanins von uns beobachteten Verhältnisse nicht zutreffen kann. Hier ist der „additional factor“ eine Decarboxylase, und das Ferment, dessen „additional factor“ die Decarboxylase darstellt, ist eine Aminoxydase. Es gilt die Gleichung: „l-Desaminase = Decarboxylase + Aminoxydase“. Wie groß der Geltungsbereich dieser Gleichung ist, inwieweit er auch andere der l-Reihe angehörende Aminosäuren umfaßt, müßte durch weitere Untersuchungen geklärt werden.

3. Entstehung einer blutdrucksenkenden Substanz aus Dioxyphenylalanin.

Läßt man Nierenextrakt bei Sauerstoffgegenwart auf Dioxyphenylalanin einwirken, indem man die Versuchsansätze nicht wie in den Versuchen des ersten Abschnittes mit Stickstoff, sondern einige Minuten lang mit Sauerstoff durchströmt oder auch einfach in Luftatmosphäre stehen läßt, so färben sich die Lösungen im Verlauf weniger Stunden schwarz und sind dann im Blutdruckversuch unwirksam. Setzt man gleich zu Anfang

einige Milligramme Ascorbinsäure zu, so bleiben die Versuchslösungen farblos oder färben sich nur leicht braun und sind dann pharmakologisch wirksam. Sie wirken jetzt im Blutdruckversuch aber nicht, wie man vielleicht hätte erwarten dürfen, blutdrucksteigernd, sondern verursachen eine starke und oft langdauernde Blutdrucksenkung (Abb. 7). Diese tritt auch nach vorheriger Atropinisierung des Versuchstieres auf. — Auch ohne Zusatz von Ascorbinsäure bildet sich die blutdrucksenkende Substanz bei Gegenwart von Sauerstoff; sie läßt sich dann aber nur nachweisen, wenn man die Oxydation nicht bis zum Auftreten des schwarzen Melanins fortschreiten läßt, sondern in einem früheren Stadium des Oxydationsablaufes untersucht, wenn es erst zu einer leichten Braunfärbung oder überhaupt noch nicht zu einer sichtbaren Verfärbung der Lösung gekommen ist (Abb. 8).

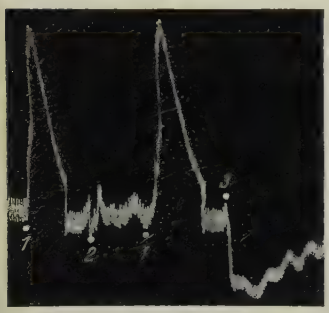


Abb. 7. Entstehung einer blutdrucksenkenden Substanz aus Dioxyphenylalanin. 5 ccm Phosphatextrakt aus Schweineniere + 10 mg l-Dopa in 5 ccm Aqua dest. — Ascorbinsäure: 5 mg in 1 ccm (neutralisiert). 12 Stunden bei 37° in N_2- bzw. O_2-Atmosphäre. Katze. Blutdruck.
1 = 0,5 ccm Nierenextrakt + Dopa (N_2).
2 = 0,5 ccm Nierenextrakt + Dopa (O_2).
3 = 0,5 ccm Nierenextrakt + Dopa + Ascorbinsäure (O_2).

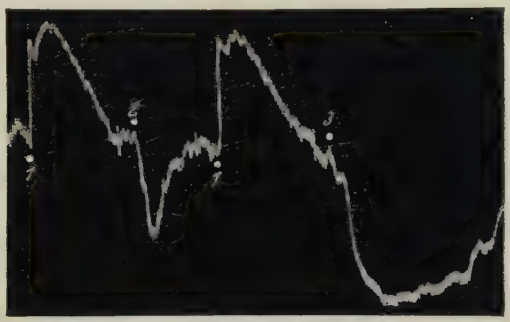


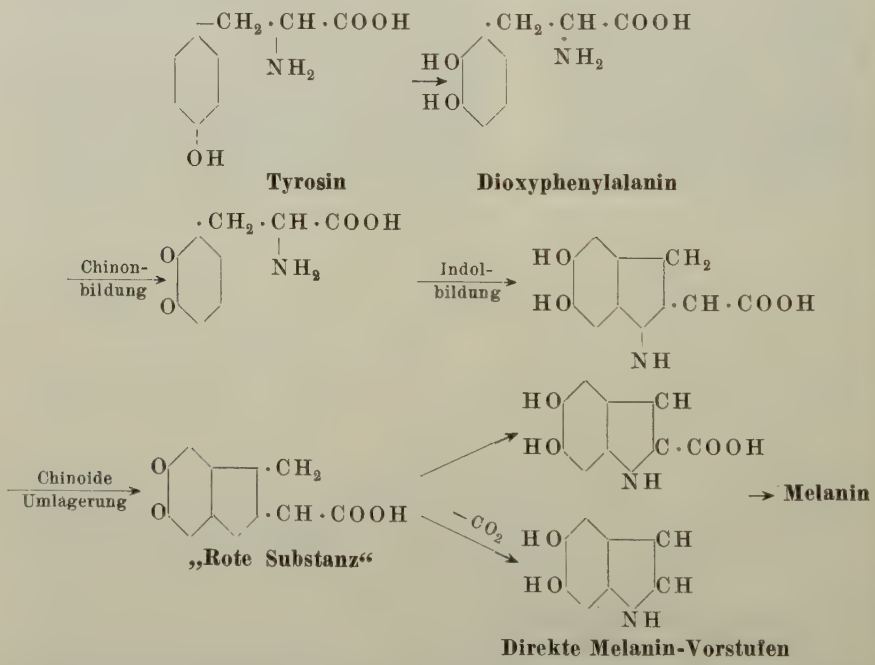
Abb. 8. Entstehung einer blutdrucksenkenden Substanz aus l-Dopa. Warburg-Apparatur. 2 ccm Phosphatextrakt aus Meerschweinchenniere + 2 mg l-Dopa in 0,5 ccm Aqua dest. — Ascorbinsäure: 2 mg in 0,2 ccm Aqua dest. (neutralisiert). 45 Minuten lang in N_2- bzw. Luftatmosphäre geschüttelt. Katze. Blutdruck.
1 = 0,5 ccm Nierenextrakt + Dopa (N_2).
2 = 0,2 ccm Nierenextrakt + Dopa (O_2).
3 = 0,2 ccm Nierenextrakt + Dopa + Ascorbinsäure (O_2).

Um Aufschluß über die Natur der blutdrucksenkenden Substanz zu erhalten, muß berücksichtigt werden, daß die Oxydation, die zur Umwandlung des pharmakologisch unwirksamen Dioxyphenylalanins in eine depressorische Substanz führt, an zwei Stellen im Molekül der Aminosäure erfolgen könnte —, an der Seitenkette und am Ring.

a) Oxydation an der Seitenkette. Eine an der Seitenkette des Dioxyphenylalanins angreifende Oxydation könnte im Falle des d-Dioxyphenylalanins durch die in unseren Extrakten vorhandene d-Desaminase erfolgen und als Reaktionsprodukte die Dioxyphenylbrenztraubensäure bzw. darüber hinaus die Dioxyphenylessigsäure liefern. Für die l-Form des Dioxyphenylalanins käme, wie im vorhergehenden Abschnitt auseinandergesetzt worden ist, die Oxydationswirkung einer l-Desaminase, in

diesem Falle des aus Decarboxylase und Aminoxydase bestehenden Fermentsystems in Frage. Hierbei müßten als Oxydationsprodukte der Dioxyphenylacetaldehyd bzw. darüber hinaus in gleicher Weise wie beim d-Dioxyphenylalanin die Dioxyphenylessigsäure in Betracht gezogen werden.

b) Oxydation am Ring. Über die Veränderungen, die durch eine an den beiden OH-Gruppen des Ringes angreifende Oxydation verursacht werden, und die hierbei entstehenden Reaktionsprodukte sind wir durch die Untersuchungen von Raper[13] über die Tyrosinase unterrichtet. Nach Raper wandelt dieses im Pflanzenreich weit verbreitete Ferment das Tyrosin zunächst in Dioxyphenylalanin um. Die beiden phenolischen OH-Gruppen des Dioxyphenylalanins werden dann unter Chinonbildung oxydiert. Anschließend soll es durch Umlagerung der Seitenkette zu einem Fünferring zur Bildung von Indolderivaten kommen, unter denen sich das erste sichtbare Produkt der Reaktion, die „rote Substanz", befindet. Diese soll dann unter Umwandlung in eine zunächst wieder ungefärbte Verbindung in die direkten Melaninvorstufen und schließlich in das schwarze Melanin selbst übergeführt werden:



Die blutdrucksenkende Substanz könnte demnach, wenn sie in einem der Tyrosinasewirkung vergleichbaren Oxydationsmechanismus entsteht, unter den Indolderivaten des obigen Reaktionsschemas zu suchen sein.

[13] Raper, H. S., u. Mitarbeiter: Biochem. J. **19**, 84, 92 (1925); **20**, 735 (1926); **21**, 89 (1927); **24**, 239 (1930); **27**, 36 (1932).

Wenn wir auch über die pharmakologischen Wirkungen dieser Verbindungen nichts wissen, so findet sich doch in kürzlich veröffentlichten Untersuchungen von Bacq und Heirman[14] eine Stütze für die hier erörterte Möglichkeit. Diese Forscher ließen Tyrosinasepräparate auf Adrenalin einwirken und verglichen die zum Teil sichtbaren chemischen Veränderungen, die durch die oxydierende Wirkung des Ferments hervorgerufen wurden, mit den parallel gehenden Änderungen der biologischen Wirksamkeit. In Versuchen am isolierten Froschherzen und in Blutdruckversuchen an Kaninchen und Katzen zeigte sich, daß die Adrenalinlösungen zunächst sehr bald, mitunter schon in wenigen Minuten unter Rotfärbung ihre Herz- und Blutdruckwirkung verloren, dann aber im Laufe der nächsten Stunden wieder biologisch wirksam wurden. Sie wirkten jetzt jedoch nicht pulsbeschleunigend und blutdrucksteigernd, sondern im Gegenteil verlangsamten sie die Herztätigkeit und senkten den Blutdruck. Bei noch längerer Einwirkung des Ferments verloren die Adrenalinlösungen schließlich unter Melaninbildung endgültig ihre biologische Wirksamkeit. — Unter den gleichen Versuchsbedingungen entstand aus Tyrosin keine blutdrucksenkende Substanz, wohl hingegen aus Tyramin.

Ähnliche Ergebnisse wie mit Tyrosinase erhielten Bacq und Heirman, wenn sie Extrakte aus Katzenuterus oder aus den Coronararterien von Rindern auf Adrenalin einwirken ließen. Die Forscher nehmen zur Erklärung dieser Beobachtungen das Vorhandensein einer der Tyrosinase ähnlichen „Catecholoxydase" gerade in denjenigen Organen an, die durch Adrenalin gelähmt werden, und vermuten, daß die Lähmungswirkung hier durch eine fermentative Umwandlung des Adrenalins zustande kommt.

Über die Natur der von Bacq „Adrenoxine" genannten, oxydativ entstandenen pharmakologisch aktiven Substanz werden von den Autoren zwar keine Angaben gemacht, es kann unserer Ansicht nach aber kaum zweifelhaft sein, daß es sich im Sinne der Ergebnisse der Raperschen Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus der Tyrosinase um ein durch Ringschluß der Seitenkette entstandenes Indolderivat handelt, das in der Reihenfolge der Reaktionsprodukte sich an die Bildung der „roten Substanz" anschließt und vor den Melaninkörpern liegt.

Wir haben durch folgende Versuche zu entscheiden versucht, ob die aus Dioxyphenylalanin entstehende blutdrucksenkende Substanz durch Oxydation am Ring oder an der Seitenkette des Moleküls gebildet wird. — Zunächst haben wir untersucht, ob die der Entstehung der blutdrucksenkenden Substanz zugrunde liegende Reaktion optisch spezifisch ist, indem wir Nierenextrakt auf l- und d, l-Dioxyphenylalanin einwirken ließen. Die Abb. 3B zeigt, daß nur die l-Form der Aminosäure in die blutdrucksenkende Substanz umgewandelt wird. Das könnte dafür sprechen,

[14] Bacq, C. M., u. P. Heirman: C. r. Soc. Biol. **126**, 1264 (1937); **126**, 1268 (1937); Bull. de l'Acad. roy. de Belg. **1938**, S. 29; Arch. internat. de Physiol. **46**, 417 (1938).

daß die maßgebliche Reaktion sich an der Seitenkette des Moleküls abspielt; denn hier sitzt das asymmetrische Kohlenstoffatom. Der Schluß ist aber nicht zwingend. Denn, wie wir schon erwähnten, fand Bacq in seinen Versuchen mit Tyrosinase, in denen nur eine Oxydation an den OH-Gruppen des Ringes in Frage kommt, daß außer Adrenalin auch Tyramin in den blutdrucksenkenden Körper umgewandelt werden konnte, nicht aber Tyrosin, die dem Amin entsprechende Aminosäure. Andererseits haben unsere, im ersten Teil dieser Arbeit mitgeteilten Untersuchungen über die Entstehung von Oxytyramin aus Dioxyphenylalanin gezeigt, daß die Decarboxylase des Nierenextraktes nur aus der l-Form der Aminosäure das Amin bildet. Es könnte demnach so sein, daß die blutdrucksenkende Substanz in gleicher Weise, wie sie sich in den Versuchen von Bacq nur aus Tyramin, nicht aber aus Tyrosin bildet, so in unseren Versuchen nur aus Oxytyramin, nicht aber aus Dioxyphenylalanin direkt entsteht. Dann aber würde die optische Spezifität der Reaktion, die zur Bildung der depressorischen Substanz aus l-Dioxyphenylalanin führt, nicht mehr zu bedeuten brauchen, als daß die blutdrucksenkende Substanz deshalb nur aus der l-Form der Aminosäure entsteht, weil nur diese in das Amin übergeführt werden kann. Sie wäre kein Hinweis darauf, daß der Angriffspunkt des oxydativen Umwandlungsprozesses die Seitenkette des Moleküls und nicht der Ring ist.

Tatsächlich entsteht die blutdrucksenkende Substanz auch aus Oxytyramin (Abb. 9B). Lassen wir jedoch Nierenextrakt bei Sauerstoffgegenwart auf Tyrosin, Adrenalin oder Tyramin einwirken, so erhalten wir im Gegensatz zu den Ergebnissen von Bacq mit Tyrosinase auch aus Adrenalin und Tyramin keinen depressorisch wirksamen Körper (Abb. 9C und 9D). — Hier wirkt auch der Zusatz von Ascorbinsäure ganz anders als in den Versuchen mit l-Dioxyphenylalanin und Oxytyramin. Ascorbinsäure verzögert lediglich die oxydative Zerstörung des Adrenalins und Tyramins und ihrer blutdrucksteigernden Wirkung, beim Dioxyphenylalanin und Oxytyramin hingegen wird die oxydative Umwandlung in die blutdrucksenkende Substanz durch Ascorbinsäure gefördert bzw. das depressorisch wirkende Umwandlungsprodukt wird stabilisiert.

Aber auch aus diesen Unterschieden braucht nicht gefolgert zu werden, daß die Oxydation im Falle des Dioxyphenylalanins und Oxytyramins an einer anderen Stelle im Molekül erfolgt als im Falle des Tyramins bei den Tyrosinaseversuchen von Bacq. Die durch Nierenextrakt und durch Tyrosinase gebildete blutdrucksenkende Substanz scheint ein Dioxyphenylderivat ohne Carboxylgruppe zu sein. Das würde erklären, weshalb die Fermente des Nierenextrakts nicht nur aus Oxytyramin, sondern auch aus l-Dioxyphenylalanin den depressorischen Körper zu bilden vermögen: Durch die Decarboxylase des Nierenextrakts wird die Aminosäure unter Abspaltung von Kohlensäure in das Amin übergeführt. Weiterhin würde sich dadurch erklären lassen, daß im Nierenextrakt weder

aus Tyrosin noch aus Tyramin blutdrucksenkende Substanzen entstehen: Die Oxyphenylderivate können nicht in die Dioxyphenylderivate umgewandelt werden. Tyrosinase andererseits vermag diese Umwandlung, wie aus den schon erwähnten Untersuchungen von Raper hervorgeht, vorzunehmen und dementsprechend auch aus Tyramin blutdrucksenkende Substanz zu bilden, wobei dann die Umwandlung aller Wahrscheinlichkeit nach über das Oxytyramin als Zwischenstufe erfolgt. Aus Tyrosin hinwiederum entsteht auch im Tyrosinaseansatz keine blutdrucksenkende Substanz, obwohl es zu Dioxyphenylalanin oxydiert werden kann, weil

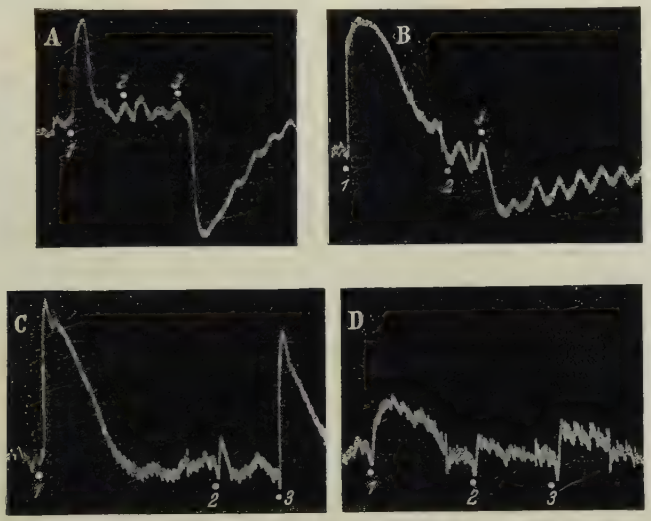


Abb. 9. Die Wirkung von Nierenextrakt auf Dioxyphenylalanin, Oxytyramin, Adrenalin und Tyramin in N_2- und O_2-Atmosphäre. 5 ccm Phosphatextrakt aus Schweineniere + 10 mg l-Dopa (A), 5 mg Oxytyramin (B), 1 mg Adrenalin (C), 5 mg Tyramin (D) in 5 ccm Aqua dest. — Ascorbinsäure: 10 mg in 1 ccm Aqua dest. (neutralisiert). — 15 Stunden in N_2- bzw. O_2-Atmosphäre. Katze. Blutdruck. — Injektion von 0,5 ccm:

1 = in N_2.
2 = in O_2.
3 = in O_2 + Ascorbinsäure.

die Tyrosinase nicht zur Umwandlung der Aminosäure in das Amin fähig ist. Aus demselben Grund erhalten wir auch in Versuchen mit Dioxyphenylalanin keine blutdrucksenkende Substanz, wenn wir Tyrosinase einwirken lassen.

Trotzdem glauben wir, daß der depressorisch wirkende Körper, der durch Nierenextrakt aus Dioxyphenylalanin und Oxytyramin gebildet wird, nicht identisch ist mit der blutdrucksenkenden Substanz, die in den Versuchen von Bacq unter der Einwirkung von Tyrosinase aus Adrenalin und Tyramin entsteht und ihre Entstehung wahrscheinlich einer durch Oxydation der OH-Gruppen des Ringes veranlaßten chinoiden Umlagerung mit anschließender Indolbildung verdankt. Im ersteren Fall

handelt es sich vielmehr höchstwahrscheinlich um eine Oxydation der Seitenkette, die durch die im Nierenextrakt enthaltene Aminoxydase veranlaßt wird. Das Oxytyramin ist dieser Oxydation direkt zugänglich, das l-Dioxyphenylalanin hingegen erst nach erfolgter Decarboxylierung durch die ja ebenfalls im Nierenextrakt vorhandene Decarboxylase und das d-Dioxyphenylalanin schließlich überhaupt nicht, da es von der Decarboxylase nicht angegriffen wird. Die blutdrucksenkende Substanz ist deshalb vermutlich Dioxyphenylacetaldehyd oder Dioxyphenylessigsäure. Hierfür sprechen folgende Beobachtungen.

Läßt man Nierenextrakt auf l-Dioxyphenylalanin oder Oxytyramin bei Sauerstoffgegenwart einwirken und fügt zu einem Teil der Versuchsansätze Ascorbinsäure hinzu, so wird hierdurch die Ausbeute an blutdrucksenkender Substanz erhöht (Abb. 7 und 8). Die Ascorbinsäure verhindert

Tabelle 8. Oxydation von l-Dioxyphenylalanin durch Nierenextrakt in Gegenwart von Ascorbinsäure.

Warburg-Apparatur. Die Versuchsgläser enthalten 2 ccm Nierenextrakt (Meerschweinchen) vom p_H 7,4 und 2 mg l-Dopa in 0,5 ccm Aqua dest. — Ascorbinsäure: 2 mg in 0,2 ccm Aqua dest. (neutralisiert). — Die Kontrollen enthalten für die Versuche ohne Ascorbinsäure: 2 ccm Nierenextrakt + 0,5 ccm Aqua dest., für die Versuche mit Ascorbinsäure außerdem 2 mg Ascorbinsäure in 0,2 ccm Aqua dest. — Die im Kontrollversuch aufgenommenen O_2-Mengen wurden von denen des Hauptversuchs abgezogen.

Versuchs-Nr.	Versuchszeit	cmm O_2	
		ohne Ascorbinsäure	mit Ascorbinsäure
1	80′	169	180
2	150′	174	190
3	60′	155	160

aber die an den OH-Gruppen des Ringes sonst einsetzende Oxydation des Dioxyphenylalanins oder Oxytyramins, was am Ausbleiben der Pigmentbildung erkennbar ist. Andererseits wird eine an der Seitenkette des Moleküls erfolgende Oxydation durch Ascorbinsäure nicht beeinträchtigt; das geht daraus hervor, daß das System Nierenextrakt + l-Dioxyphenylalanin auch bei Anwesenheit von Ascorbinsäure über die zur Eigenoxydation der Ascorbinsäure erforderlichen Mengen hinaus Sauerstoff aufnimmt (Tabelle 8). Ähnliche Ergebnisse erhält man, wenn man anstatt Ascorbinsäure Blausäure oder Ascorbinsäure + Blausäure zusetzt. Da Blausäure die Umwandlung der Aminosäure in das Amin fast vollkommen verhindert, setzen wir diese Versuche nicht mit l-Dioxyphenylalanin an, sondern mit Oxytyramin, oder aber wir lassen, ehe die Blausäure zugesetzt wird, den Nierenextrakt 1 Stunde lang in Stickstoffatmosphäre auf l-Dioxyphenylalanin einwirken und dieses dadurch in Oxytyramin überführen. Werden die Versuchslösungen dann nach Zusatz von Blausäure oder von Ascorbinsäure + Blausäure in der Warburg-Apparatur in Luftatmosphäre geschüttelt,

so erfolgt auch in den blausäurehaltigen Ansätzen eine deutliche Sauerstoffaufnahme, die Lösungen bleiben farblos und wirken stark blutdrucksenkend (Abb. 10). Die blutdrucksenkende Substanz kann hier nur durch eine oxydative Veränderung der Seitenkette entstanden sein.

Als Oxydationsprodukte kommen der Aldehyd und die Fettsäure in Frage. Läßt man Dioxyphenylalanin sich in Gegenwart von Semicarbazid oxydieren, so sind die Versuchslösungen im Blutdruckversuch wirkungslos. Das könnte seinen Grund darin haben, daß der Dioxyphenylacetaldehyd die blutdrucksenkende Substanz ist und nun durch die Bindung an Semicarbazid biologisch unwirksam wird. Es läßt sich jedoch durch diesen Versuch nicht ausschließen, daß die Dioxyphenylessigsäure die blutdruckwirksame Substanz ist, sich jetzt aber nicht aus dem Aldehyd bilden kann,

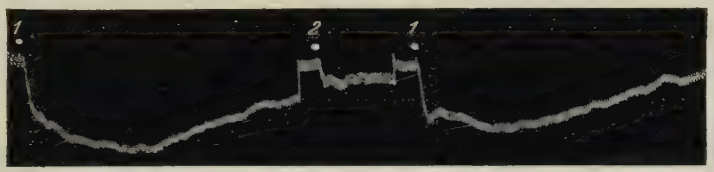


Abb. 10. Einfluß von Blausäure auf die Entstehung der blutdrucksenkenden Substanz.
5 ccm Phosphatextrakt aus Meerschweinchenniere + 10 mg l-Dopa in 5 ccm Aqua dest.: 1 Stunde in N_2-Atmosphäre bei 37°, dann Einfüllung in die Versuchsgläser der Warburg-Apparatur. — Die Gläser enthalten: 2 ccm Phosphatextrakt + Dopa. Zusätze: 0,4 ccm Aqua dest. bzw. 0,2 ccm m/50 KCN + 0,2 ccm Aqua dest. bzw. 0,2 ccm m/50 KCN + 2 mg Ascorbinsäure in 0,2 ccm Aqua dest. — 60 Minuten lang in Luftatmosphäre geschüttelt. Katze. Blutdruck.
1 = 0,5 ccm Nierenextrakt + Dopa + Ascorbinsäure + KCN.
2 = 0,5 ccm Nierenextrakt + Dopa + Aqua dest.
1 = 0,5 ccm Nierenextrakt + Dopa + KCN.

weil dieser durch Semicarbazid gebunden und an der Weiteroxydation verhindert wird. Das letztere ist aber unwahrscheinlich, da, wie aus den schon mitgeteilten Versuchen (vgl. Abb. 3B) hervorgeht, die blutdrucksenkende Substanz sich nur aus der l-Form des Dioxyphenylalanins bildet. Dioxyphenylessigsäure müßte aber auch aus d-Dioxyphenylalanin entstehen können, indem die Aminosäure durch die d-Desaminase des Nierenextraktes zur Ketonsäure und diese dann weiter zur Fettsäure oxydiert würde. Die Versuchsergebnisse mit Semicarbazid sind unserer Ansicht nach deshalb in dem Sinne zu deuten, daß der Dioxyphenylacetaldehyd die blutdrucksenkende Substanz ist.

Zusammenfassung.

1. Läßt man Phosphatextrakte aus Niere unter Ausschluß von Sauerstoff auf Dioxyphenylalanin einwirken, so bildet sich in den farblos bleibenden Lösungen eine Substanz, die bei intravenöser Injektion den Blutdruck der Katze erhöht. Die Blutdruckwirkung wird wie diejenige des Adrenalins und im Gegensatz zu derjenigen des Tyramins durch Cocain verstärkt. Die Ausbeute ist bei p_H 7—8 am größten. — Die wirksame

Substanz entsteht nur aus der natürlich vorkommenden l-Form des Dioxyphenylalanins. Erhitzen der Extrakte auf 80° und Zusatz von Blausäure verhindert ihre Entstehung. Sie läßt sich in Form eines Benzoylderivats isolieren und wird als Oxytyramin identifiziert. — Im Nierenextrakt ist demnach ein Ferment vorhanden, welches Dioxyphenylalanin zu Oxytyramin decarboxyliert.

Der Umsatz der Aminosäure zum Amin beträgt in Versuchen mit Meerschweinchenniere fast 90%. Schweine- und Kaninchenniere sind weniger wirksam. Rattenniere ist wirkungslos.

2. Im Nierenextrakt ist außer einer Decarboxylase eine Aminoxydase enthalten, welche Oxytyramin zu Dioxyphenylacetaldehyd oxydiert. Der oxydative Abbau des l-Dioxyphenylalanins erfolgt quantitativ über Oxytyramin als Zwischenstufe zu Dioxyphenylacetaldehyd: Es wird doppelt soviel Kohlensäure abgespalten wie Sauerstoff aufgenommen. — Der Aldehyd wird als Dinitrophenylhydrazon isoliert und identifiziert. — Blausäure und Octylalkohol hemmen die Wirkung des Fermentsystems; die verschiedenen Angriffspunkte dieser Hemmungswirkungen werden dargelegt.

Der fermentative Abbau der natürlich vorkommenden Aminosäure l-Dioxyphenylalanin wird demnach durch ein in der Niere vorhandenes Fermentsystem besorgt, das aus Decarboxylase und Aminoxydase besteht. Die Beziehungen des Systems „Decarboxylase + Aminoxydase" zur l-Desaminase und d-Desaminase werden erörtert.

3. Läßt man Phosphatextrakte aus Niere bei Gegenwart von Sauerstoff auf Dioxyphenylalanin einwirken, so färben sich die Versuchslösungen nach einigen Stunden schwarz und sind im Blutdruckversuch wirkungslos. Zusatz von Ascorbinsäure verhindert die Melaninbildung. Die dann farblosen Lösungen sind pharmakologisch wirksam: Sie verursachen im Blutdruckversuch an der Katze eine Blutdrucksenkung. Diese tritt auch nach Atropin auf.

Auch ohne Zusatz von Ascorbinsäure läßt sich die Bildung der blutdrucksenkenden Substanz nachweisen, wenn man den Ansatz untersucht, nachdem erst ungefähr 1 Atom Sauerstoff pro Molekül Substrat aufgenommen ist und die Lösungen sich noch nicht stärker verfärbt haben.

Die depressorische Substanz entsteht nur aus der l-Form des Dioxyphenylalanins. Auch aus Oxytyramin bildet sie sich unter der Einwirkung von Nierenextrakt bei Sauerstoffgegenwart, nicht hingegen aus Adrenalin, Tyrosin und Tyramin.

Es werden Gründe dafür angeführt, daß die blutdrucksenkende Substanz durch eine Oxydation der Seitenkette des Moleküls und nicht durch eine Oxydation der OH-Gruppen des Ringes entsteht und wahrscheinlich identisch ist mit Dioxyphenylacetaldehyd.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Bereitstellung von Mitteln zur Ausführung dieser Arbeit.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.
(Direktor: O. Gros.)

Untersuchungen über die pharmakologische Beeinflussung vegetativer Zentren.

Von

Hans T. A. Haas.

(Eingegangen am 3. Oktober 1938.)

I.

Trotz zahlreicher Bemühungen ließ sich bisher bei einem Teil der am vegetativen System angreifenden Pharmaca mittels experimenteller Untersuchungen eine eindeutige Entscheidung nicht ermöglichen, ob bei diesen Substanzen neben den von der Peripherie aus ausgelösten Reaktionen auch direkte zentrale Wirkungen mit beteiligt sind. Im besonderen Ausmaße gilt dies hinsichtlich der Einflußmöglichkeiten dieser Stoffe speziell auf die Zentren des Zwischenhirns. Die Schwierigkeiten, die sich der Erforschung dieser Fragen entgegenstellen, beruhen einmal darauf, daß im Experiment eine Wirkung auf die vegetativen Zentren (v. Z.) nur faßbar ist an der Beeinflussung peripherer Funktionsänderungen. Daneben ist maßgebend die enorme Wirksamkeit dieser Stoffe auf die Gebilde der Peripherie und zwar selbst in kleinen Dosen. Aus der Verknüpfung dieser beiden Gegebenheiten ergibt sich, daß im Experiment am Tier die Möglichkeit einer mittelbaren Beeinflussung des Hirns von der Peripherie aus fast stets gegeben ist oder wenigstens nicht mit Sicherheit ausschließbar ist.

Insbesondere lassen sich periphere Einflüsse bei der Benutzung operativer Techniken kaum vermeiden. Es sei hier nur beispielhaft auf das Adrenalin hingewiesen, bei dem man sich im besonderen Umfange um die Klärung seiner Beziehungen zu den v. Z. bemüht hat. Hier konnte gerade Heymans[1] in jüngster Zeit nachweisen, daß die Wirkung des Adrenalins auf das Vaguszentrum, die Heinekamp[2] sowie Anrep und Segall[3] auf Grund ihrer Befunde am isoliert durchströmten Schildkrötenkopf bzw. am Herz-Lungen-Kopfpräparat als zentralen Adrenalineffekt deuteten, nur als sekundäre Folgen eines primär vom Sinus caroticus ausgelösten Mechanismus zu betrachten ist.

Durch die Untersuchungen Cushings[4], der sich erstmalig der Einführung pharmakologisch wirksamer Substanzen in die Liquorräume be-

---

[1] Heymans, C.: Arch. internat. pharm. dynam. **35**, 269 (1929). — [2] Heinekamp, W. J. R.: J. of Pharm. **19**, 131 (1922). — [3] Anrep, V. u. Segall: J. of Physiol. **61**, 215 (1926). — [4] Cushing, H.: Proc. Nat. Acad. of Science **17**, 163, 171 (1931).

diente, und dabei Resultate erzielte, die eine Abtrennung direkt zentral gerichteter Einflüsse von peripheren Wirkungsmechanismen zu ermöglichen schienen, gewann die Injektion in den Liquor (L.) auch für die Analyse zentraler Wirkungen vegetativer Pharmaca an Interesse. Die Methode erschien hierfür besonders geeignet, da sie in sich die Vorteile vereinigte, daß die Zufuhr extravasal unter Umgehung des peripheren und Hirnkreislaufes erfolgt und zugleich in unmittelbarer Nähe der vermuteten Angriffspunkte stattfinden kann. Zudem ließ sich an Hand von Farbstoffversuchen[5] zeigen, daß bei der Injektion in den L. auch ein Eindringen in das Hirngewebe erfolgt. Da mit farbtechnisch nachweisbaren Salzen, wie Weed[6], Wislocki und Putnam[7] feststellten, die gleichen Ergebnisse zu erzielen waren, ist es wohl berechtigt, auch für Pharmaca ein ähnliches Verhalten zu erwarten. Daneben konnten die Farbstoffuntersuchungen den weit wichtigeren Nachweis erbringen, daß bei der Einführung in die L.-Räume eine Resorption in die Blutbahn primär nicht stattfindet. Auch im Bereich des Plexusepithels, das einen Teil der Wandung der Hirnkammer bildet, ist nach dem Ergebnis der Farbstoffuntersuchung eigentümlicherweise eine direkt einsetzende Aufnahme in das Blut wenigstens in größerem Umfange abzulehnen. Vielmehr geschieht das Eindringen in das Hirn, wie es besonders eindeutig die histologischen Untersuchungen von Spatz[5] beweisen, völlig unabhängig von irgendwelchen Gewebsstrukturen, insbesondere von den Gefäßen. Damit wird aber erst die Applikation über den L.-Weg zu einer wirklich berauchbaren Methode für eine Differenzierung zentraler von peripheren Angriffspunkten, da hiermit die Möglichkeit einer Beeinflussung des Z.N.S. über die Peripherie und über den Kreislauf ausgeschaltet wird. Im einzelnen geschieht das Eindringen in das Hirngewebe nach den Farbstoffversuchen in einer breiten Front. Es folgt dabei lediglich den Gesetzen der Diffusion und erstreckt sich ausschließlich auf eine schmale Randzone, deren Tiefe bestimmt ist von der Dispersität der gelösten Substanzen und ihrer Teilchengröße. Die Verwendung gut diffusibler und leicht nachweisbarer Salze führte zu den gleichen Ergebnissen.

Um so mehr muß es überraschen, daß die von pharmakologischer Seite mit einer Reihe von vegetativen Pharmaca unternommenen Versuche, unter Benutzung des L.-Weges als Applikationsort eine Ermittlung zentraler Angriffspunkte vorzunehmen, zu den verschiedenartigsten Ergebnissen führten.

1. Eine Erklärung ist hierfür einmal zu suchen in der verschiedenartigen Technik, die von den einzelnen Autoren angewandt wurde. In Anlehnung an Cushing[4] wurde von der Mehrzahl der Untersucher die direkte Injektion in die Ventrikel unter Eröffnung des Schädels bevorzugt.

---

[5] Spatz, H.: Arch. f. Psych. **101**, 267 (1934). — [6] Weed, L. H.: J. med. Res. **31**, 93 (1914). — [7] Wislocki, G. B., u. T. J. Putnam: Amer. J. of Anat. **29**, 313 (1921).

Methodisch einfacher in der Handhabung ist die von anderen Autoren benutzte suboccipitale Punktion, die zugleich den Vorteil bietet, daß sich eine Verletzung des Hirngewebes und vor allem der zentralen Gefäße im Gegensatz zu der intraventrikulären Injektion mit absoluter Sicherheit vermeiden läßt, da sich eine Gefäßarrosion bei der Aspiration des L. an einer blutigen Verfärbung einwandfrei erkennen läßt und im übrigen der Eingriff ein oberflächlicher ist. In einer künstlichen Erzeugung einer Kommunikation des L. mit der Blutbahn muß man aber gerade bei der Verwendung peripher wirksamer Substanzen eine evtl. bedeutsame Fehlerquelle sehen. Mit dem direkten Eindringen in den Blutkreislauf kann eine zentrale Wirksamkeit auf dem Wege über eine primäre periphere Beeinflussung vorgetäuscht werden. Für das Adrenalin konnte Heller[8] den Beleg erbringen, daß mit der Verletzung zentraler Gefäße im Gegensatz zu einer einwandfrei durchgeführten Punktion auch vom L. aus nur eine Wirkung erzielt werden konnte, die von einem intravenös hervorgerufenen Adrenalineffekt nicht zu unterscheiden war.

2. Zudem hat aber bei der Prüfung vegetativer Pharmaca auf ihre zentrale Wirksamkeit die Tatsache bisher kaum Beachtung gefunden, daß nach dem Eindringen der Substanzen in das Hirngewebe, das primär unabhängig vom Gefäßsystem erfolgt, sekundär eine Aufsaugung und Resorption in das Blut einsetzt und dann ein Abtransport auf dem Blutwege stattfindet. Der zur Resorption benötigte Zeitraum ist dabei kurz bemessen und steht in direkter Abhängigkeit von der Dispersität. So fand Ziegler[9] Ferrocyankali bereits 10 Minuten nach der Einführung in den L. im Blute wieder und nach 20—30 Minuten ist es nach Lewandowski[10] schon im Harn nachweisbar. Methylenblau braucht dagegen nach Siccard[11] etwas längere Zeit. Für die Analyse zentraler Wirkungen bedeutet das aber, daß ausschließlich primär mit einer direkten Wirkung auf die Zentren in der Umgebung der L.-Räume zu rechnen ist, wenn nicht eine überaus schnell einsetzende Resorption in das Blut jeden eindeutigen Einfluß auf die zentralen Gewebe von vornherein verwischt. In der zweiten Phase ist aber wenigstens bei allen peripher wirksamen Pharmaca wiederum mit dem Eindringen in die Blutbahn die Möglichkeit des Einsetzens peripherer Wirkungen und damit einer sekundären Beeinflussung des Z. N. S. gegeben, vorausgesetzt, daß bei der Injektion in den L.Dosen Verwendung finden, die im Bereich peripher wirksamer Gaben liegen.

Unter diesen Gesichtspunkten müssen alle Versuche an Beweiskraft für eine direkte Beeinflussung der vegetativen Zentren verlieren, bei denen die Zufuhr peripher wirksamer Gaben über den L.-Weg durch Injektion in die Cisterne und in die Ventrikel nur die gleiche Wirkung hervorruft wie bei einer intravenösen Injektion. Derartige Ergebnisse liegen vor: für

[8] Heller, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **173**, 291 (1933). — [9] Ziegler: Z. Chir. **65**, 222 (1902). — [10] Lewandowski, M.: Z. klin. Med. **40**, 480 (1900). — [11] Siccard: Zitiert nach Spatz: Arch. f. Psych. **101**, 267 (1933).

Pilocarpin von Lawrence und Dial[12], Light und Bysshe[13], Aird und Montgomery[14]. Für Adrenalin von Dixon und Halliburton[15], Freytag und Schilf[16], Nitescu[17] und Matsueda[18]. Für Azetylcholin von Dikshit[19], Silver und Morton[20] im Tierversuch sowie am Menschen von Henderson und Wilson[21]. Auch zwei Versuche Lights und Bysshes[13] und ein weiterer von Weinberg[22] mit Azetylcholin, bei denen ein Blutdruckabfall erzielt wurde, stellen sich in diese Reihe. Alle diese Untersucher benutzten zur Injektion in den L. Dosen, die selbst bei einer teilweise stattfindenden Resorption zu einer Beeinflussung peripherer Funktionen genügen würden. Auch die Versuche Dikshits[19] mit Azetylcholin fallen trotz der Kleinheit der gewählten Dosen nach den Ergebnissen unserer eigenen Untersuchungen (s. u.) noch in den Bereich der peripher wirksamen Gaben.

Diesen bisher besprochenen Befunden stehen andere Beobachtungen gegenüber, die eine zentrale Wirksamkeit der benutzten Pharmaca begründen mit dem unterschiedlichen Ausfall der Wirkungen je nach der Art der Darreichung. Hierher gehören auch die Ergebnisse einzelner Autoren, die den vegetativen Pharmaca bei der intracisternalen oder intraventrikulären Zufuhr Wirkungslosigkeit zuschreiben. Derartige Angaben machen für Azetylcholin Heller und Kusunoki[23], sowie Weinberg[22], [24] und für Adrenalin Heller[8], Heymans[25] im Tierversuch und am Menschen Janossy[26]. Für die Bewertung dieser Befunde ist jedoch zu beachten, daß sie teilweise unter Vorbehandlung der Tiere mit Narkotica erzielt wurden, für die ein dämpfender Einfluß auch auf die vegetativen Zentren bekannt ist. Das trifft selbst bei direkter Zufuhr in die Hirnkammer zu, wie Cushing[27] sowie Heller und Kusunoki[23] für Pituitrin und ferner Light und Mitarbeiter[28] für Pilocarpin zeigen konnten. Dazu kommt, daß das Fehlen einer Wirkung offenbar nur im Bereich bestimmter Dosierungen zutrifft. So erwähnt Weinberg[22] einen Versuch, bei dem Azetylcholin wenigstens in hohen Dosen eine Blutdrucksenkung veranlaßte. Ebenso erzielte Heller[8]) mit Adrenalin in hohen Gaben eine Änderung des Blutdrucks und zwar auffallenderweise

[12] Lawrence, J. H., u. D. E. Dial: Proc. Soc. exper. Biol. Med. **30**, 49 (1932). — [13] Light, R. U., u. St. M. Bysshe: J. of Pharm. **47**, 17 (1933). — [14] Aird, R. B., u. M. F. Montgomery: Ebenda **56**, 290 (1936). — [15] Dixon, W. E., u. W. D. Halliburton: J. of Physiol. **50**, 198 (1916). — [16] Freytag, A., u. E. Schilf: Z. Neurol. **139**, 35 (1932). — [17] Nitescu, J. J.: C. r. **87**. 818 (1922). — [18] Matsueda, A.: Zitiert nach Ber. d. ges. Physiol. **68**, 790 (1932). — [19] Dikshit, B. B.: J. of Physiol. **79**, 1 (1933); **80**, 409 (1934). — [20] Silver, G. H., u. H. G. Morton: J. of Pharmac. **56**, 446 (1936). — [21] Henderson, W. R., u. W. C. Wilson: Quart. J. exper. Physiol. **26**, 83 (1936). — [22] Weinberg, J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 235 (1937). — [23] Heller, H., u. G. Kusunoki: Ebenda **173**, 301 (1933). — [24] Weinberg, J.: Ebenda **185**, 42 (1937). — [25] Heymans, C.: Bull. Acad. med. Belg. **13**, 290 (1933). — [26] Janossy, J.: Dtsch. Z. f. Nervenheilkde. **92**, 273 (1926). — [27] Cushing, H.: Proc. of Nat. Acad. of Sc. **17**, 248 (1931). — [28] Light, R. U., C. C. Bishop u. L. G. Kendall: J. of Pharmac. **47**, 37 (1933).

eine Blutdrucksenkung, die teilweise sogar derartig hohe Ausmaße annahm, daß sie den Tod der Tiere zur Folge hatte. In der Tiefe und Dauer des Blutdrucksturzes sieht er zwar den Beweis einer zentral ausgelösten Wirkung. Jedoch hält Heller diese Wirkung nicht mehr für einen spezifischen Einfluß des Adrenalins auf die v. Z., sondern faßt sie in Anbetracht der schweren Allgemeinwirkungen mit letalem Ausgang als eine allgemeine toxische Schädigung des Z. N. S. auf, mit der eine Lähmung der v. Z. gleichzeitig verknüpft ist.

Die Berechtigung einer derartigen Deutung läßt sich u. E. auch aus den Befunden anderer Autoren ableiten, die nicht nur hinsichtlich der Dosierungsgröße, sondern auch durch die Erzielung andersgearteter Wirkungsbilder bei der Einführung von Pharmaca in den L. in absoluter Parallele stehen zu den Versuchen Hellers mit hohen Adrenalingaben. Mit besonderer Deutlichkeit zeigen dies die Befunde Lights und seiner Mitarbeiter[28] mit Pilocarpin, mit dem diese Autoren bei der Benutzung hoher Dosen neben geringfügigen Abweichungen in bezug auf die Reaktion der Pupillen und der Temperatur ein schweres Vergiftungsbild in Form von Konvulsionen bei fast allen Tieren hervorriefen und sogar in einer größeren Anzahl den Exitus der Tiere bewirkten. Auch bei den übrigen Untersuchungen ist das Auftreten unterschiedlicher Wirkungsbilder stets an die Verwendung sehr hoher Dosen geknüpft, die in unmittelbarer Nähe der toxisch wirkenden Gaben liegen. So erzielte Cushing[4] mit Pilocarpin von den Hirnkammern aus am Menschen neben einer heftigen Allgemeinreaktion als besonders auffallenden Befund einen Blutdruckanstieg. Für die Versuche Marinescos und seiner Mitarbeiter[29] mit Ergotamin muß nach den eigenen Untersuchungen (s. u.) ebenfalls angenommen werden, daß die verwendete Dosis von 1 mg bereits im Bereich toxischer Gaben liegt. Auch hier besteht wiederum im Blutdruckabfall der Unterschied zum peripheren Effekt, der bekanntlich ein blutdrucksteigernder ist. Schließlich liegen auch die von Suh, Wang und Lim[30] benötigten Mengen intracisternal injizierten Azetylcholins zur Erzielung einer Blutdrucksteigerung bereits an der Grenze der toxischen Dosen, wie wiederum die eigenen Versuche (s. u.) lehren.

Mit dem Auftreten allgemein zentral-nervöser Symptome entfällt aber für alle diese Versuche die Möglichkeit, innerhalb des gesamten Wirkungsbildes eine exakte Abgrenzung und Ermittlung der spezifisch auf die v.Z. gerichteten Einflüsse vorzunehmen. Erschwert wird dies zudem noch dadurch, daß bei der Verwendung derartig hoher Dosen unbedingt mit einer Resorption in den Kreislauf zu rechnen ist und damit noch eine Vermischung zentraler und peripher ausgelöster Reaktionen eintreten muß. Es braucht dabei wohl nicht betont zu werden,

---

[29] Marinesco, G., O. Sager u. A. Kreindler: C. r. **107**, 191 (1931). — [30] Suh, T. H., C. H. Wang u. R. K. S. Lim: Proc. Soc. exper. biol. and med. **32**, 1410 (1935).

daß mit einer derartigen Deutung nicht überhaupt jeglicher zentraler Einfluß auf die v.Z. abgelehnt wird; sie bestreitet lediglich die Möglichkeit einer einwandfreien Analyse, inwieweit die beobachteten Wirkungen zentral verursacht sind und in welchem Umfange periphere Einflüsse mitbeteiligt sind.

II.

Zusammenfassend ist aus der gegebenen Darstellung die Schlußfolgerung zu ziehen, daß für die exakte Abgrenzung zentraler Angriffspunkte bei den vegetativen Pharmaca nur Versuche geeignet sind, bei denen das Auftreten peripherer Einflüsse sich mit absoluter Sicherheit vermeiden läßt. Diese Bedingung ist praktisch beim Arbeiten mit vegetativen Pharmaca im Experiment am Tier nur einzuhalten, wenn zwei Voraussetzungen erfüllt werden.

1. Muß die Zufuhr des Wirkstoffes völlig unabhängig vom Gefäßsystem erfolgen.

2. Muß jede Möglichkeit eines sekundären Eindringens in die Blutbahn und eine Resorption ins Blut ausgeschaltet werden.

Zu 1. Die erste Forderung ist bei der Untersuchung vegetativer Pharmaca garantiert bei der Anwendung der intracisternalen Injektion als Zufuhrweg. Diese Methodik ist in ihrer Bedeutung bereits von Hamperl und Heller[31] richtig erkannt worden, die erstmalig auf die Wichtigkeit der Unversehrtheit der Blutliquorschranke für den Ausfall der Untersuchungen hinwiesen. Daneben ist bei der intracisternalen Injektion eine Vorbereitung der Tiere nicht notwendig. Weiterhin kommt neben der experimentell durchführbaren Applikation auf extravasalem Wege auch das Eindringen in das Hirngewebe unabhängig vom Gefäßsystem zustande, so daß die Gefäße für die Zufuhr bis direkt zum vermuteten Angriffspunkt überhaupt nicht benutzt werden. Die weitere Entfernung des Zufuhrortes zum Wirkungsort hat keinen Nachteil zur Folge. Wie die Versuche Hamperls und Hellers[31] mit Tusche und die Farbstoffversuche Spatzs[5] beweisen, findet auch bei der Injektion in die Cisterne ein rasches Eindringen in die inneren L.-Räume und in die Ventrikel statt. Die Ausbreitung auf die äußeren L.-Räume ist nach Spatz dagegen in ihrem Umfange beschränkt. Bei der unmittelbar benachbarten Lage der v.Z. in der Nähe der Hirnkammern bietet somit die intracisternale Injektion gerade für die Prüfung vegetativer Funktionen besonders günstige Möglichkeiten.

Zu 2. Das zweite Postulat, nämlich die Vermeidung jeder sekundären Resorption in die Blutbahn, hat dagegen bei den bisherigen Untersuchern im allgemeinen keine Beachtung gefunden, wie bereits bei der Besprechung der Literatur dargelegt wurde. Dieser Faktor verdient aber Berücksichtigung

---

[31] Hamperl, H., u. H. Heller: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **173**, 238 (1933).

bei der Einführung peripher aktiver Substanzen in die L.-Räume, nachdem die Versuche mit Farbstoffen und Salzen den eindeutigen Nachweis erbringen konnten, daß die in den L. injizierten Stoffe nach dem Eindringen in das Hirngewebe in die Blutbahn aufgenommen werden. Ein Vordringen bis zur Peripherie kann somit auch bei der Injektion in den L. nicht verhütet werden. Die Resorption in die Blutbahn kann aber andererseits nur dann zum Eintritt peripherer Wirkungen führen, wenn in den L. Dosen gegeben werden, die auch peripher wirksam sind. Wenn aber das Einsetzen peripherer Einflüsse an diese Bedingung geknüpft ist, so ist damit zugleich der Weg gewiesen, der die Ausschaltung peripherer Wirkungen garantiert. Die Möglichkeit liegt einfach in der Benutzung derart kleiner Dosen zur Injektion in die Cisterne, die vom Blutwege aus keine Wirkung entfalten. Bei der direkten Applikation über den L.-Weg auf den Wirkungsort und der äußerst leichten Ansprechbarkeit des Z.N.S. gegenüber äußeren Reizen und Giftwirkungen ist zu erwarten, daß auch bei der Anwendung derart niedriger Dosen eine direkt zentral gerichtete Wirkung experimentell faßbar bleibt.

III.

Auf diesen Überlegungen fußen die eigenen Versuche. Ihre praktische Durchführung bestand in Anlehnung an die Methoden früherer Untersucher in einer vergleichenden Auswertung der bei der Injektion in den L. auftretenden Erscheinungen mit jenen, die nach peripherer Zufuhr des gleichen Stoffes hervorgerufen werden. Im Gegensatz zu den bisher vorliegenden Untersuchungen dienten aber als Test für die Analyse zentraler Wirkungen nicht ausschließlich qualitative Unterschiede im Wirkungsbild. Es wurde vielmehr die Differenzierung zentraler und peripherer Angriffspunkte in erster Linie auf eine quantitative Grundlage gestellt. Im einzelnen bestanden die eigenen Versuche in einer möglichst exakten Ermittlung der kleinsten intravenös wirksamen Gaben und andererseits in einer möglichst genauen Festlegung der niedrigsten Dosen, die vom L. aus noch eine Beeinflussung vegetativer Funktionen auslösen können. Bei der Anwendung dieser Methode ist eine zentrale Wirkung anzunehmen, falls bei der Injektion in die L.-Räume Gaben noch einen Einfluß auf vegetative Funktionen ausüben, die unterhalb der kleinsten intravenös wirksamen Dosen liegen. Umgekehrt muß das Fehlen quantitativer Unterschiede in der Dosierung trotz Benutzung verschiedenartiger Zufuhrwege bzw. die Überschreitung peripher wirksamer Gaben zur Erzielung eines Effektes vom L. aus gleichbedeutend mit einer ausschließlich peripheren Wirksamkeit sein.

Neben diesen allgemeinen Gesichtspunkten wurden zur bestmöglichen Sicherung der Resultate bei unseren Versuchen die Einflußmöglichkeiten der vegetativen Gifte für mehrere Funktionen, die in Abhängigkeit vom vegetativen System stehen, berücksichtigt. Um eine Prüfung aller Reaktionen an ein und demselben Tier zu ermöglichen, wählten wir als Test für die Beurteilung vegetativ ausgelöster Funktionsänderungen den Blutzucker, die Temperatur und das Blutbild.

Für diese Regulationsmechanismen des Organismus ist zunächst eine Abhängigkeit vom peripheren vegetativen System erwiesen, so für die Wärme- und Blutzuckerregulation insbesondere durch pharmakologische Untersuchungen. Nach Hoff[32] gilt auch für das Blutbild die Bindung an das vegetative System.

Außerdem ist aber für den Zuckerhaushalt seit dem Zuckerstich Claude Bernards auch eine zentrale Innervation gesichert und für die Wärmeregulation bieten die Untersuchungen Isenschmidts und Krehls[33] den gleichen Beleg. Für den Einfluß des Gehirns auf das Blutbild liegen ebenfalls eine größere Anzahl von Beobachtungen vor und zwar sind hier wiederum Hoff und seine Mitarbeiter[34] und ferner eine Reihe japanischer Autoren[34] zu nennen.

Methodik.

Die Versuche wurden an Kaninchen im Gewicht von 1600 bis 2500 g ausgeführt. Die Tiere hungerten mit Rücksicht auf die Untersuchung des Blutbildes und Blutzuckers vor Beginn der Untersuchung 12—24 Stunden. Die Dosierung erfolgt im allgemeinen pro Tier, bei der Ermittlung der toxischen Dosen sowohl bei der intravenösen wie auch intracisternialen Zufuhr pro kg Körpergewicht. Die Injektion in die Cisterne wurde ohne jede Präparation des Tieres und unter Vermeidung jeden Druckes ausgeführt. Abgesehen von einigen Versuchen mit Ergotamin und Ergometrin in toxischer Dosierung wurden mengenmäßig 0,1—0,3 ccm langsam und in körperwarmem Zustande injiziert nach vorheriger Entfernung des gleichen Volumens an L.-Flüssigkeit.

In Kontrollversuchen trat bei Verwendung gleichgroßer Mengen physiologischer Kochsalz- und Ringerlösung und destillierten Wassers bei gleichem Injektionstempo keine Änderung der Temperatur, des Blutzuckers und des Blutbildes ein.

Bei einer blutigen Verfärbung der aspirierten L.-Flüssigkeit infolge nicht einwandfreier Durchführung der Suboccipitalpunktion wurden die Versuche abgebrochen.

Für die intravenöse Zufuhr wurden bei den einzelnen Pharmaca die gleichen Mengen und gleichen Konzentrationen benutzt. Die Temperatur wurde rektal gemessen. Zur Bestimmung des Blutzuckers diente die Methode nach Hagedorn-Jensen. Für jeden einzelnen Blutzuckerwert wurden 2 Einzelanalysen gemacht. Die Untersuchung des Blutbildes beschränkte sich auf eine Zählung der absoluten Leukocytenwerte in der Thoma-Zeiss-Zählkammer, bei der ebenfalls mindestens 2 Kontrollen durchgeführt wurden. Daneben erfolgte eine quantitative Auszählung der verschiedenen Zellformen an 200—300 Zellen im Ausstrichpräparat unter Benutzung der kombinierten Färbung nach Pappenheim.

Neben der Festlegung der Normalbefunde wurden im einzelnen diese Bestimmungen erstmalig 5—10 Minuten nach der Injektion des Pharmakons und sodann bis zur Rückkehr der Befunde zur Norm in $^1/_2$stündigen Abständen und von der 2. Stunde in 1stündigen Zwischenräumen durchgeführt.

Zur Vermeidung etwaiger Fehlerquellen wurden für jede einzelne benutzte Dosis wenigstens 2—3 Versuche durchgeführt; bei Abweichungen innerhalb der Einzelergebnisse wurden weitere 1—2 Versuche hinzugefügt. Außerdem erfolgte die Bewertung der erhobenen Einzelbefunde nach einheitlichen Maßstäben, die unter Berücksichtigung der normalerweise auftretenden Schwankungen aufgestellt wurden.

So wurde für die beobachteten Schwankungen der Temperatur nur dann ein Einsetzen pharmakologischer Einflüsse geltend gemacht, falls sich die Rektaltemperatur im Laufe des Versuchs durch einen Anstieg bzw. Abfall um mehr als

[32] Hoff, F.: Ergebn. d. inn. Med. **33**, 195 (1928). — [33] Isenschmidt, R., u. L. Krehl: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **70**, 109 (1912). — [34] Hoff, F.: Klin. Wschr. **1938**, S. 638.

0,5° von dem Ausgangswert unterschied. Kontrollversuche an Normaltieren zeigten, daß eine derartige Schwankungsbreite innerhalb der benötigten Versuchszeit außerhalb der Norm fällt.

Für die Abweichungen des Blutzuckers bezeichneten wir eine Änderung des Blutzuckerspiegels um Werte von $\pm$ 10 mg% gegenüber dem Nüchternwert als positiv. Bei der Konstanz des Blutzuckers für das Einzelindividuum bei der Einhaltung gleichartiger äußerer Bedingungen fällt eine derartige Schwankung nach der allgemein geltenden Ansicht außerhalb der üblichen Fehlergrenzen.

Beim Blutbild ist dagegen bereits normalerweise mit dem Auftreten weitgehender Schwankungen zu rechnen. So schließt insbesondere eine alleinige Änderung der absoluten Leukocytenwerte ohne gleichzeitige Beeinflussung des Prozentverhältnisses der verschiedenen Zellformen die Möglichkeit einer verschiedenartigen Verteilung innerhalb der Blutgefäße oder das Auftreten von Spontanschwankungen keineswegs mit Sicherheit aus. Es werden deshalb bei der Beurteilung pharmakologischer Einwirkungen auf das Blutbild nur solche Befunde in Betracht gezogen, bei denen neben einer wesentlichen Abweichung innerhalb der Leukocytenzahl zugleich eine entsprechende Verschiebung des prozentualen Verhältnisses der einzelnen Blutzellformen eintritt. Eine Abweichung des Blutbildes von der Norm wird deshalb in unseren Versuchen nur dann angenommen, wenn sich eine Schwankung der Gesamtzahl der weißen Blutzellen um 20% gegenüber dem Ausgangswert einstellt und sich gleichzeitig eine Kernverschiebung oder Änderung des prozentualen Anteils der einzelnen Zellformen um mehr als 10% feststellen läßt.

Mit der Aufstellung derartiger Bedingungen dürften für die Beurteilung der erhobenen Befunde Fehlerquellen weitgehend ausgeschaltet sein.

Picrotoxin.

Die ersten Versuche wurden mit Picrotoxin durchgeführt, für das zentrale Angriffspunkte auch im Bereich der v.Z als gesichert gelten. Die ermittelten Befunde sind in der Tabelle 1 zusammengestellt unter Wertung

Tabelle 1.

Dosis pro Tier in γ	Intracisternal			Intravenös		
	Temperatur	Zucker	Blutbild	Temperatur	Zucker	Blutbild
0,001—0,005	0	—	0	0	0	0
0,01—0,1	0	+	0	0	0	0
0,5—6,0	—	+	—	0	0	0
12—18	—	+	—	0	0	—
25—200				0	—	—
300—1 mg				—	+	—

In der Tabelle bedeutet: + = Anstieg der Werte, — = Abfall der Werte, 0 = fehlendes Ergebnis.

der Einzelergebnisse nach den erwähnten Gesichtspunkten. Die Untersuchungen erstreckten sich nicht nur auf die angeführten Dosen; es wurden vielmehr stets auch bei den anderen Pharmaca eine Reihe von Zwischendosen geprüft, die tabellarisch, so weit die Ergebnisse einheitlich ausfielen, in eine einzige Dosierungsgruppe zusammengefaßt wurden.

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, bestätigte sich für das Pikrotoxin, daß auch mit der gewählten Versuchsanordnung seine zentralerregenden

Eigenschaften experimentell eindeutig faßbar sind. Denn bei der intracisternalen Zufuhr unmittelbar in die Nähe der vegetativen Zentralapparate wurden bereits Veränderungen von Dosen ausgelöst, die weit unterhalb der kleinsten intravenös wirksamen Gaben liegen. Damit dürfte eine Beeinflussung des Z.N.S. auf dem Wege über eine Wirkung auf die Peripherie auszuschließen sein. Die quantitativen Unterschiede in der Wirkungsstärke des Picrotoxins bei verschiedenartiger Applikation sind dabei so groß, daß sie selbst unter Berücksichtigung der Streuung nicht zweifelhaft erscheinen können. Außerdem bietet die Einhaltung der gewählten Versuchsbedingungen, nach denen nur relativ grobe Ausschläge in der Reaktion der vegetativ innervierten Funktionen gewertet werden, die Gewähr für den eindeutigen Ausfall der erzielten Ergebnisse.

Zudem werden unsere eigenen experimentellen Erfahrungen gestützt durch verschiedene Angaben, die sich in der Literatur vorfinden. So konnten Rosenthal und Friedländer[35] bei intracerebralem Einbringen von Pikrotoxin eine Temperatursenkung mit Dosen hervorrufen, die etwa nur $^1/_{1000}$ der kleinsten subcutan wirksamen Gabe betrugen. Der Erfolg der intracerebral erzielten Wirkung schließt nach der Auffassung dieser Autoren infolge der Kleinheit der benutzten Dosis eine Beeinflussung des Z.N.S. über den Blutweg aus und ist nur durch einen unmittelbaren Kontakt des Hirngewebes mit dem Pikrotoxin zu erklären. Weiter liegen die Befunde Hasamas[36] vor, nach denen bei Katzen bei der Injektion in die Infundibulargegen 0,01 mg — das ist nach den Angaben Hasamas $^1/_{180}$ der subcutan wirksamen Dosis — noch genügten, um die Symptome der Parasympathicuserregung, wie Speichelfluß, Pupillenverengerung und Schweißsekretion herbeizuführen. Eine Senkung der Temperatur trat bei der Einführung in das Hirngewebe nach Hasama erst bei 0,1 mg ein, während nach Rosenthal und Friedländer in Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen noch 1 γ einen Einfluß auf die Temperatur entfaltete und Gaben von 0,01 mg bereits schwere Schädigung bzw. den Tod der Tiere zur Folge hatten. Bei subcutaner Injektion erzielte Hasama mit 0,2 mg Pikrotoxin einen Temperaturabfall um 0,5° und ab 0,6 mg betrug das Absinken der Temperatur in allen Fällen über 1°. Diese Angaben stehen weitgehend in Parallele zu unseren Beobachtungen bei intravenöser Zufuhr. Ebenso schwankte die Dauer der Temperaturbeeinflussung wie bei dem angeführten Autor innerhalb der genannten Dosen bei intravenöser und -cisternaler Applikation zwischen 2—3 Stunden.

Wie bei der Temperatur sind die Wirkungen des Pikrotoxins auf den Blutzucker und das Blutbild abgesehen von quantitativen Unterschieden absolut gleichlaufend bei intravenöser und -cisternaler Zufuhr. Bemerkenswert ist, daß das Pikrotoxin auf die Blutzuckerregulation bei der Injektion in die Cisterne in überaus geringen Gaben noch einen Einfluß besitzt, der

[35] Rosenthal, F., u. E. Friedländer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 324 (1937). — [36] Hasama, B.: Fol. Pharm. Jap. **8**, III, 8 (1920).

in besonderen Ausmaßen im Gegensatz zu seiner Wirkstärke bei intravenöser Darreichung steht. Außerdem verdient Beachtung, daß die kleinsten wirksamen Gaben des Pikrotoxins bei jeder Art der Zufuhr einen blutzuckersenkenden Effekt hervorrufen, den wir in der Literatur bisher nicht erwähnt fanden. Dieses gegensätzliche Verhalten des Blutzuckerspiegels bei verschiedener Dosierungsgröße des Pikrotoxins dürfte insbesondere den Einwand, daß Kaninchen infolge ihrer hohen Empfindlichkeit gegenüber äußeren Einflüssen als Versuchstiere für Blutzucker- und Blutbilduntersuchungen ungeeignet sind, entkräften, zumal in Kontrollversuchen, bei denen destilliertes Wasser, Ringer- und physiologische Kochsalzlösung normalen Tieren eingespritzt wurden, keine Änderung der vegetativen Funktionen gesehen wurde.

Bei der Untersuchung des Blutbildes ergab sich eine Verminderung der Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen zugleich mit einem Anstieg der Lymphocyten und z. T. auch der Basophilen.

Die Dauer des Blutzuckerabfalls und der Änderung des Blutbildes hielt bei den unteren Grenzdosen bei intravenöser und -cisternaler Applikation zwischen 30 und 60 Minuten an, um bei Injektion höherer Gaben auf $1^1/_2$—3 Stunden anzusteigen. Bei der Benutzung relativ hoher Gaben zur Einführung in den L. von 6 γ an erfolgte eine Rückkehr zur Norm erst nach 4 Stunden, um sekundär einer Umkehr der Reaktionen Platz zu machen. Das Anhalten der Wirkung über diesen Zeitraum gilt hierbei auch für die Beeinflussung der Temperatur.

Zur Sicherung der Befunde wurde zudem noch eine Auswertung der toxischen Dosen bei beiden Darreichungsformen an einer geringen Anzahl

Tabelle 2. Tödliche Dosen.

Intracisternal			Intravenös		
Dosis pro kg in mg	Anzahl der Tiere	Tot	Dosis pro kg in mg	Anzahl der Tiere	Tot
0,005	2	0	0,5	2	0
0,01	3	2	1,0	3	1
0,02	2	2	1,5	2	2

von Tieren durchgeführt. Im Gegensatz zu den obigen Untersuchungen wurden diese Dosen pro kg Tier ermittelt. Auch hierbei zeigten sich deutliche Unterschiede in der Wirkungsstärke des Pikrotoxins je nach der Art der Zufuhr.

Der Exitus erfolgte stets unter Krämpfen, wobei zugleich teilweise die bekannten Temperatursteigerungen eintraten und weiterhin sich stets die Zeichen der Parasympathicuserregung, wie Speichelfluß und Pupillenverengerung einstellten. Die ermittelten toxischen Dosen stimmen bei der intracisternalen Injektion weitgehend überein mit den von Rosenthal und Friedländer[34] bei parinfundibulärer Injektion bestimmten letalen

Gaben in Höhe von 0,01 mg. Bei intravenöser Injektion entsprechen die eigenen Befunde den Ergebnissen Kohns[37], der als minimal letale Dosis für 50 % der Tiere bei 1,2 bis 1,3 mg/kg Pikrotoxin angibt.

Acetylcholin.

Im Gegensatz zum Pikrotoxin beeinflußt das Azetylcholin bei direkter Applikation in die Blutbahn die vegetativen Funktionen bereits in Dosen, die sich bei der Injektion in den L. wirkungslos erweisen. Die quantitativen Unterschiede sind bei der verschiedenartigen Zufuhr auch hier genügend

Tabelle 3.

Dosis pro Tier in γ	Intracisternal			Intravenös		
	Temperatur	Zucker	Blutbild	Temperatur	Zucker	Blutbild
0,1	0	0	0	0	0	0
0,5—1,0	0	0	0	0	—	0
5	0	—	0	0	—	—
10	0	—	—	0	— +	—
25	0	— +	—	0	+	—
50	0	+	—	0	+	— +
100—300	—	+	— +	0	+	— +
400—500	—	+	+	0	+	+
1 mg	—	+	+	—	+	+
2 mg	— +	+	+	— +		
3—10 mg	+					

In der Tabelle bedeutet: — + = wechselndes Ergebnis.

groß, um selbst bei Beachtung der Streuung noch gewertet werden zu können. Eine schnelle Zerstörung des Azetylcholins im L. kann für die geringe Wirksamkeit des Azetylcholins bei der Injektion in die L.-Räume nicht maßgebend sein, da nach den Untersuchungen Altenburgers[38] der Azetylcholinabbau im L. etwa 250mal langsamer als im Blut erfolgt. Es ist demnach wohl berechtigt, dem Azetylcholin ausschließlich periphere Angriffsmöglichkeiten zuzusprechen. Diese können sich auch bei der Injektion in den L. infolge der sekundär eintretenden Aufnahme in die Blutbahn und der langsamen Spaltung im L. bei entsprechend höherer Dosierung geltend machen und so hinreichend das Auftreten peripherer Wirkungen auch bei der Applikation in die Cisterne erklären. Gotsev[39], der nach Entfernung des Gehirns und der Medulla oblongata mit Azetylcholin die gleichen Effekte wie am intakten Tier erzielte, lehnt ebenfalls eine direkte Beeinflussung der vegetativen Zentralapparate für das Azetylcholin ab.

Die intravenös wirksame Schwellendosis von 0,5 γ, mit der erstmalig eine Änderung des Blutzuckerspiegels zustandekommt, ist also relativ hoch

[37] Kohn, R. J.: Americ. Pharmaceut. Assoc. **27**, 286, 1938. — [38] Altenburger, H.: Klin. Wschr. **1937**, S. 398. — [39] Gotsev, T.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 207 (1936).

zu bezeichnen im Vergleich zu den Dosen des Azetylcholins, die ein Absinken des Blutdrucks herbeiführen können. Nach Gremels und Zinnitz[40] erfolgt auf 0,1 γ Azetylcholin intravenös bei der Katze regelmäßig ein deutlicher Blutdruckabfall und nach den Angaben von Hunt und Taveau[41] läßt sich sogar noch mit Dosen unterhalb von 0,01 γ zuweilen eine deutliche Blutdrucksenkung hervorrufen. Im übrigen bieten für unsere Befunde hinsichtlich der Beeinflussung des Blutzuckers die Ergebnisse Lang und Rigos[42] eine Parallele, die am Kaninchen bei subcutaner Darreichung von 0,25—0,5 mg/kg eine Senkung des Blutzuckers um 15—27% und mit Dosen über 1 mg einen Anstieg des Blutzuckers um 13—43% erzielten.

Die verschiedenartige Wirkung auf die vegetativen Funktionen bei wechselnder Dosierung konnte beim Azetylcholin auch für das Blutbild und die Temperatur beobachtet werden. Sein Einfluß auf das Blutbild bestand in kleinen Dosen in einem Absinken der Zahl der weißen Blutkörperchen unter Zunahme der Lymphocyten und Basophilen. Bei Erhöhung der Dosen trat dagegen eine Vermehrung der Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen ein. Das differenzierte Blutbild zeigt jedoch ein gleichmäßiges Verhalten wie bei der Benutzung niedriger Gaben. Die Angaben der Tabelle beziehen sich daher innerhalb des höheren Dosierungsbereiches nur auf die Gesamtzahl der Leukocyten. Im Gegensatz zu unserer Beobachtung konnten Backmann und Mitarbeiter[43] bei intravenöser Zufuhr von 0,43 mg/kg Azetylcholin am Kaninchen keine Änderung des Blutbildes erreichen; bei subcutaner Darreichung von nahezu letal wirkenden Gaben wurde ein Anstieg der Leukocyten hervorgerufen.

Die Dauer der Wirkung hielt im allgemeinen nur flüchtig an. In hoher Dosierung wurden jedoch bei intracisternaler Applikation Wirkungen über einen Zeitraum von 2—3 Stunden beobachtet.

Tabelle 4. Tödliche Dosen.

Intracisternal			Intravenös		
Dosis pro kg in mg	Anzahl der Tiere	Tot	Dosis pro kg in mg	Anzahl der Tiere	Tot
10	2	0	0,5	3	0
25	3	1	0,7	3	1
50	2	2	1,0	4	3

Die Bestimmung der toxischen Azetylcholingaben bestätigte die geringere Wirkungsstärke bei der Injektion in den L. gegenüber der intravenösen Darreichung.

Der Exitus erfolgte zumeist außerordentlich schnell. Neben einer maximalen Verengerung der Pupillen und Atemstörungen waren heftige

[40] Gremels, H., u. F. Zinnitz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 229 (1935). — [41] Hunt, R., u. R. de M. Taveau: Zitiert nach J. H. Gaddum, Thieme 1936, S. 50. — [42] Lang, S., u. L. Rigo: Biochem. Z. **192**, 172 (1928). — [43] Backmann, E. L., G. Edström, E. Grahs u. G. Hultgren: C. r. **93**, 190 (1925).

Erregungserscheinungen mit Krämpfen vorherrschend, zu denen sich besonders bei intracisternaler Injektion vielfach Lähmungssymptome der Extremitäten hinzugesellten. Die von uns ermittelten intravenös tödlich wirkenden Gaben liegen allerdings wesentlich höher als die von Justin-Besancon[44] am Kaninchen bestimmten letalen Dosen in Höhe von 0,2—0,3 mg/kg Körpergewicht.

Pilocarpin.

Beim Pilocarpin sind nicht so ausgeprägte quantitative Differenzen in der Wirkungsstärke bei seiner Einführung in die L.-Räume gegenüber der intravenösen Injektion vorhanden wie beim Pikrotoxin. Hinsichtlich der Beeinflussung des Blutbildes fehlen sie sogar völlig. Auch bei der Bestimmung der toxischen Dosen finden sich nur relativ geringfügige Unterschiede. Weitere experimentelle Untersuchungen, die zur Zeit durchgeführt werden, scheinen jedoch den Beleg zu bieten, daß auch für das Pilocarpin die Annahme einer direkt zentral gerichteten Wirkung gesichert erscheint.

Tabelle 5.

Dosis pro Tier in γ	Intracisternal			Intravenös		
	Temperatur	Zucker	Blutbild	Temperatur	Zucker	Blutbild
1—5	0	0	0	0	0	0
10—25	0	0	—	0	0	—
50—100	—	+	—	0	0	+
500—2 mg	— +	+ —	+ +	0	0	+
5—10 mg				— +	+	+

Tabelle 6. Tödliche Dosen.

Intracisternal			Intravenös		
Dosis pro kg in mg	Anzahl der Tiere	Tot	Dosis pro kg in mg	Anzahl der Tiere	Tot
2,5	2	0	5	3	0
5	3	2	10	3	1
10	3	3	25	3	2

Die Beeinflussung des vegetativen Systems ist beim Pilocarpin bei intracisternaler Injektion stark schwankend insbesondere innerhalb des Dosierungsbereiches von 0,5—2,0 mg. Bei insgesamt 17 Einzelversuchen ergaben sich jedoch mit zwei Ausnahmen insofern gewisse Gesetzmäßigkeiten, daß der Temperaturabfall stets mit einem Blutzuckeranstieg einherging und umgekehrt ein Ansteigen der Temperatur von einer Blutzuckersenkung begleitet war.

[44] Justin Besancon, L.: Zitiert nach J. H. Gaddum, Thieme 1936, S. 62.

Ein verschiedenartiges Verhalten der vegetativ innervierten Funktionen bei wechselnder Dosierung zeigte sich bei der Untersuchung des Blutbildes, das auf kleine Dosen mit einem Abfall der weißen Blutkörperchenzahl unter gleichzeitiger Vermehrung der Lymphocyten antwortete, während höhere Dosierungen eine Zunahme der Blutkörperchenzahl zugleich mit einem Abfall der Lymphocyten und einer Linksverschiebung der Neutrophilen zur Folge hatten. Beim Blutzucker war dagegen der Wechsel der Dosierungsgröße nicht mit einem verschiedenartigen Ansprechen der Blutzuckerregulation verbunden im Gegensatz zu den Beobachtungen von Carbonaro und Salomone[45], die am Kaninchen bei intravenöser Darreichung mit 0,01—0,05 mg/kg Hypoglykämie und in Gaben oberhalb 0,1 mg ein Auftreten von Hyperglykämie erzielten. Entsprechende Ergebnisse liegen bei subcutaner Injektion am Kaninchen von Lang und Vas[46] vor, die mit 0,5—1 mg Senkung und oberhalb 1 mg Anstieg des Blutzuckerspiegels bewirkten. Das gleiche sah Scep[47], bei dessen Versuchen 1 mg subcutan zur Hypoglykämie führte, während 4 mg den Gehalt des Blutes an Zucker steigerten.

Ebenso konnten unsere Untersuchungen nicht die Angaben Carbonaros und Salomones hinsichtlich des Verhaltens der Temperatur bestätigen, nach denen bereits ab 0,5 mg/kg intravenös eine Änderung der Wärmeregulation hauptsächlich im Sinne einer Temperatursenkung eintreten soll. Bei den eigenen Versuchen stellten sich selbst bei der Verwendung von Dosen über 5 mg/Tier nur geringe Temperaturschwankungen ein, und zwar teils in Form einer Temperaturerhöhung, teils in Form einer Temperaturerniedrigung. Dagegen sahen wir in Übereinstimmung mit diesen Autoren regelmäßig bei den Fällen, bei denen nach intravenösen Gaben von Pilocarpin eine Hyperglykämie zustande kam, zugleich auch heftige Allgemeinreaktionen in Form von starkem Speichelfluß, Miosis, Dyspnoe und Erregungserscheinungen auftreten.

Zeitlich hielt die Änderung der vegetativen Funktion bei Pilocarpin entsprechend der gewählten Dosierung an und schwankte zwischen $^1/_2$ und 1 Stunde bei niedrigen Dosen, um bei Steigerung der Dosierung über viele Stunden anzuhalten.

Die intravenös ermittelten toxischen Dosen liegen unterhalb der von Takahashi[48] bestimmten Gaben in Höhe von 0,12—0,23 g/kg. Bei der intracisternalen Injektion sahen Light u. Mitarbeiter[28] nach 10 mg/Tier in einem Falle bei 8 Tieren unter heftigen Konvulsionen den Exitus eintreten; die von uns ermittelten letalen Dosen liegen entsprechend der verschiedenen Applikationsform etwas höher.

---

[45] Carbonaro, G., u. F. Salomone: Zitiert nach Ber. d. ges. Physiol. **66**, 156, 602 (1932). — [46] Lang, S., u. M. Vas: Biochem. Z. **192**, 139 (1928). — [47] Scep, J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **144**, 277 (1929). — [48] Takahashi, H.: Tohoku J. exper. Med. **6**, 72 (1925).

Adrenalin.

Beim Adrenalin sprechen die erhobenen Befunde wiederum zugunsten der Annahme direkter zentraler Angriffspunkte an den v.Z. Auch bei der Bestimmung der toxischen Gaben zeigt das Adrenalin ein gleiches unterschiedliches Verhalten je nach der Wahl des Zufuhrweges, wie bei der Austestung der niedrigsten Schwellendosen, die noch in eindeutiger Weise eine Beeinflussung des v.-Systems zur Folge haben.

Tabelle 7.

Dosis pro Tier in γ	Intracisternal			Intravenös		
	Temperatur	Zucker	Blutbild	Temperatur	Zucker	Blutbild
0,001	0	0	0	0	0	0
0,005—0,05	0	—	0	0	0	0
0,1	0	+	0	0	0	0
0,5—1,0	0	+	0	0	—	0
5—10	0	+	+	0	— +	0
50	0	+	+	0	+	+
100—400	+	+	+	0	+	+
500—700	—	+	+	—	+	+

Im einzelnen verdient eines besonderen Hinweises die Wirkung des Adrenalins auf den Blutzucker, die bei der Anwendung kleiner Gaben auffallenderweise in einer Blutzuckersenkung besteht. Ein gleichartiger Befund findet sich bereits bei Gremels und Zinnitz[49] erwähnt, die an der

Tabelle 8. Tödliche Dosen.

Intracisternal			Intravenös		
Dosis pro kg in mg	Anzahl der Tiere	Tot	Dosis pro kg in mg	Anzahl der Tiere	Tot
0,3	3	0	0,35	3	1
0,4	3	2	0,5	3	1
			1,0	3	1
			2,0	2	2

Spinalkatze bei intravenöser Dauerinfusion von Adrenalin in niedriger Dosierung ebenfalls eine Herabsetzung des Blutzuckers eintreten sahen. Auch bezüglich der Höhe der Dosis, die diese Blutzuckersenkung herbeiführte, stehen unsere Beobachtungen trotz verschiedenartiger Technik in Parallele zu diesen Untersuchungen.

Der Einfluß des Adrenalins auf das Blutbild bestand in einem Anstieg der Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen. Bei der Auszählung der einzelnen Zellformen war teils die bekannte primäre Lymphocytenvermehrung festzustellen mit sekundärem Folgen eines Ansteigens der Neutrophilen

[49] Gremels, H., u. F. Zinnitz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 79 (1938).

und gleichzeitiger Linksverschiebung. Andererseits kam auch eine direkt einsetzende Leukocytose zustande. Gesetzmäßigkeiten in der Beteiligung der Lymphocyten und Neutrophilen ließen sich ebensowenig wie aus den vorliegenden Angaben der Literatur nachweisen. Hinsichtlich der Dosierung sind für die Beeinflussung des Blutbildes zum Vergleich die Ergebnisse Backmanns u. Mitarbeiter[50] zu nennen, nach denen 8,3 γ bei intravenöser Darreichung in einen von 3 Fällen zur Leukocytenvermehrung führte.

Die Körpertemperatur wurde nach intravenöser Injektion erst in relativ hohen Dosen und ausschließlich im Sinne einer Temperatursenkung beeinflußt in Übereinstimmung zu den Befunden Freunds[51] sowie Cloetta und Wasers[52]. Ein Anstieg der Temperatur, den diese Autoren bei kleinen intravenös injizierten Adrenalindosen fanden, war bei unseren Versuchen nicht festzustellen. Der bei intracisternaler Applikation von den letztgenannten Untersuchern erzielte Temperaturanstieg mit $^1/_{15}$ mg bietet für die eigenen Befunde Vergleichsmöglichkeiten.

Hinsichtlich der tödlichen Wirkung des Adrenalins sind starke individuelle Unterschiede in der Empfindlichkeit der Tiere bekannt. Die Angaben der Literatur gehen daher über die Höhe der letalen Gaben weit auseinander und liegen für die intravenöse Injektion zwischen 0,05 und 0,4 g/kg Körpergewicht[53]. Die eigenen Untersuchungen überschreiten selbst diese Schwankungsbreite wesentlich.

Für die Dauer der Adrenalinwirkung ist im allgemeinen die Höhe der gewählten Dosis maßgebend, jedoch währt die Wirkung des Adrenalins bei intracisternaler Injektion fast stets etwas länger als bei intravenöser Applikation.

Ergotamin und Ergometrin.

Bei diesen Versuchen wurde das Ergotamin in Form des weinsauren Salzes verwandt. Im Vergleich zu diesem wurde ferner das Ergometrin untersucht. Dieses Mutterkornalkaloid unterscheidet sich nach den Angaben Brown und Dales[54] sowie Rothlins[55] in seiner Wirkung auf das vegetative System von Ergotamin durch das Fehlen einer Sympathicuslähmung.

Bei der Ermittlung der unteren Grenzdosen, die vom L. bzw. von der Peripherie aus eine Änderung der vegetativ innervierten Funktionen bewirkten, sind bei diesen Substanzen hinsichtlich der Beeinflussung des Blutzuckers und Blutbildes keine wesentlichen Unterschiede festzustellen. Blutzucker und Blutbild antworten auf die Zufuhr von beiden Pharmaca bei jeder Darreichungsform im allgemeinen nur mit geringfügigen Änderungen, die allerdings außerhalb der normalen Schwankungsbreite liegen

[50] Backmann, E. L., G. Edström, E. Grahs u. G. Hultgren: C. r. **93**, 186 (1925). — [51] Freund, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **65**, 225 (1911). — [52] Cloetta, M., u. E. Waser: Ebenda **79**, 30 (1916). — [53] Zitiert nach Heffters Handb. II, 2, S. 1274 (1924). — [54] Brown, G. L., u. H. Dale: Proc. Roy. Soc. London **118**, 446 (1935). — [55] Rothlin, E.: C. r. **119**, 1302 (1935).

dürften. Deutliche Wirkungen werden nur erzielt bei der intracisternalen Injektion von Ergotamin in einer Dosierungsbreite zwischen 0,5 und 1 mg und von Ergometrin in Dosen zwischen 200 und 250 γ. Allerdings treten bei diesen Gaben bereits in allen Fällen heftige Allgemeinreaktionen von seiten des Z.N.S. auf. Diese bestehen primär vor allem in Erregungserscheinungen, die mit einer starken Beschleunigung der Atmung, zum Teil auch mit Dyspnoe und mit Krampfzuständen einhergehen. Bei einem Teil der Tiere sind sie von ataktischen Störungen und einem sedativen Stadium gefolgt sind. Daneben stellt sich beim Ergotamin Speichelfluß und eine Pupillenverengerung ein; beim Ergometrin tritt vorwiegend eine Pupillenerweiterung

Tabelle 9.

Dosis pro Tier in γ	Intracisternal			Intravenös		
	Temperatur	Zucker	Blutbild	Temperatur	Zucker	Blutbild
			Ergotamin.			
10—50	0	0	0	0	0	0
100	—	0	0	0	—	0
250	—	— +	—	0	—	—
500	—	+	—	0	—	—
1 mg	— +	— +	—	—	+	—
2 mg				—	+	—
			Ergometrin.			
1—5	0	0	0	0	0	0
12,5	+	0	0	0	0	+
25—50	+	+	+	0	+	+
100	+	— +	+	0	— +	+
200—250	+	— +	+	0	—	+
350				0	—	+
500—1 mg				+	—	+

auf, der teilweise eine kurzdauernde primäre Miosis vorangeht. Ein Teil der Tiere kommt zudem bei Anwendung der angeführten Dosen ad exitus; so starben nach 1 mg Ergotamin bei Injektion in die Cisterne 2 von 4 Tieren und beim Ergometrin bewirkten 250 γ in 1 von 4 Fällen den letalen Ausgang. Eine exakte Austestung der toxischen Dosen bei intracisternaler Injektion wurde aus technischen Gründen nicht durchgeführt.

Ebenso wurde auf eine exakte Abgrenzung der intravenös tödlich wirkenden Gaben verzichtet. Rothlin[56] gibt für das Kaninchen 3 mg/kg Ergotamin als intravenös tödliche Dosis an und 6 mg/kg beim Ergometrin. Das Vergiftungsbild ist auch bei intravenöser Darreichung von Ataxie und Krämpfen beherrscht. In unseren Versuchen wurden selbst 4 mg/kg Ergotamin von den Tieren vertragen. Ergometrin wurde bis zu 2 mg/kg intravenös gespritzt. Schwere toxische Schädigungen, insbesondere in Form von Krämpfen, traten bei diesen Dosen nicht auf, im Gegensatz zu unseren Beobachtungen bei intracisternaler Injektion, wo diese Erschei-

[56] Rothlin, E. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 154, 1936.

nungen von wesentlich kleineren Dosen hervorgerufen wurden. Beim Ergotamin zeigte sich teilweise eine leichte Ataxie, beim Ergometrin zumeist eine Steigerung der Erregbarkeit. Die übrigen bei intracisternaler Injektion auftretenden Symptome stellten sich auch bei intravenöser Zufuhr ein. Es bestehen somit lediglich quantitative Differenzen hinsichtlich der Toxizität beider Substanzen je nach der Wahl des Zufuhrweges, während das Vergiftungsbild an sich bei intravenöser und intracisternaler Injektion gleichartig abläuft.

Auch die Beeinflussung der Temperatur ist beim Ergotamin und Ergometrin je nach der Applikationsart an verschieden hohe Dosen gebunden. Bei intracisternaler Injektion erfolgt eine Änderung der Temperatur bei relativ sehr niedriger Dosierung im Gegensatz zur intravenösen Injektion, bei der erst weit höhere Gaben einen gleichartigen Einfluß auf die Körperwärme ausüben. Ähnlich lauten die Angaben Rigler und Silbersterns[57], nach denen 0,25 mg Ergotamin bei intracranialer Darreichung eine tiefe Temperatursenkung herbeiführten. Zur Erzielung eines annähernd gleichen Temperatursturzes waren bei anderer Form der Zufuhr wesentlich höhere Ergotamingaben erforderlich. Bei der allgemeinen zentralen Wirksamkeit dieser Substanzen, die innerhalb des Vergiftungsbildes in eindeutiger Weise zutage tritt, dürften jedoch diese Befunde kaum genügen, um daraus eine spezifisch gerichtete Wirkung auf die v.Z. abzuleiten. Sie müßte zudem ausschließlich auf die Wärmeregulation beschränkt sein, da die Beeinflussung des Blutbildes und Blutzuckers trotz verschiedenartiger Zufuhr in gleich hoher Dosierung einsetzt.

Die Wirkung des Ergotamins und Ergometrins auf die vegetativ innervierten Funktionen zeigt im einzelnen vielfach ein wechselndes Verhalten. Selbst bei gleichartiger Dosierung treten größere Schwankungen in der Stärke und Art der Reaktion auf. Bei höherer Dosierung dürfte hierfür vor allem verantwortlich sein, daß die peripheren Wirkungen überlagert werden von anderen Einflüssen, die sich aus der Wirkung dieser Substanzen auf das gesamte Z.N.S. ergeben. Außerdem sind für den verschiedenen Ausfall der ausgelösten Reaktionen Unterschiede in der individuellen Empfindlichkeit der Tiere in Betracht zu ziehen. Hierauf wird bereits in der Literatur hingewiesen.

Vergleicht man die Wirkung des Ergometrins auf Blutbild, Temperatur und Blutzucker mit der des Ergotamins, so ergeben sich trotz der Schwankungen im Gesamtbild deutliche Unterscheidungsmerkmale. Sie bestätigen u. E. für das Ergometrin das Fehlen einer ausgesprochenen Sympathicusblockade. Darüber hinaus dürften unsere Befunde mit Ergometrin zugunsten der Annahme sprechen, daß dieses eine Erregung des Sympathicus hervorbringt, in Übereinstimmung zu den Untersuchungen Brown und Dales[54], die durch fraktionierte Unterbrechung verschiedener

[57] Rigler, R., u. F. Silberstern: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **121**, 1 (1927).

sympathischer Innervationen und Nebennierenexstirpation zeigen konnten, daß Ergometrin eine Sympathicuserregung bewirkt.

In der Literatur finden sich im übrigen für das Ergometrin nur wenige Hinweise, die einen Vergleich mit unseren Befunden ermöglichen. So erzielten Brown und Dale mit Dosen von 1,8—2,8 mg/kg intravenös am Kaninchen Temperaturanstieg und ebenso With[58] mit 2,95 mg/kg. Rothlin[55] sah dagegen bereits nach 0,1 mg/kg intravenös Erhöhung der Temperatur eintreten. Beim gleichen Autor findet sich auch eine Steigerung des Blutzuckers durch Ergometrin erwähnt. Eine Wirkung des Ergometrins auf das Blutbild fanden wir in der Literatur bisher nicht beschrieben. Sie bestand bei den eigenen Versuchen in der Zunahme der Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen unter gleichzeitiger Vermehrung der Neutrophilen und einer Linksverschiebung. Die Dauer des Ergometrineffektes hielt durchschnittlich zwischen 1 und 3 Stunden je nach der Höhe der Dosierung an.

Für das Ergotamin sind im Vergleich zu unseren Befunden die Untersuchungen Rigler und Silbersterns[57] sowie Brink und Riglers[59] zu nennen, die analog zu den eigenen Beobachtungen bei intravenöser Injektion am Kaninchen nach 1—3 mg Hypothermie eintreten sahen. Nach Rothlin[60] ist der Einfluß des Ergotamins auf die Temperatur wechselnd je nach Dosierung und ebenso stellt With[61] eine verschiedenartige Wirkung auf die Temperatur fest. Bouckaert und Heymans[62] lehnen eine Beeinflussung der Temperatur selbst in Dosen von 3—4 mg intravenös ab. Bei den eigenen Versuchen antworten die Tiere stets auf die Ergotaminzufuhr in Dosen bis zu 4 mg/kg mit Temperaturabfall.

Für die Änderung des Blutzuckers bei intravenöser Zufuhr von Ergotamin lassen sich im Vergleich zu den eigenen Beobachtungen zunächst die Befunde Bufanno und Masinis[63] anführen, die mit 0,1—0,2 mg Hypoglykämie erzielten. Auch die Ergebnisse Silberstein und Kesslers[64] stehen zu den eigenen Erfahrungen in Parallele. Nach diesen Untersuchern bewirken 0,5 mg ein Absinken des Blutzuckers und 5—10 mg/Tier ein Ansteigen. Andererseits sah Nitescu[65] bei intravenöser Zufuhr von 2 bis 4 mg/kg ein wechselndes Verhalten des Blutzuckers und Bouckaert und Heymans[62] sowie Rothlin[66] sprechen dem Ergotamin jeden Einfluß auf den Blutzucker ab. Die Wirkung auf den Blutzucker war auch in den eigenen Versuchen stets nur gering ausgeprägt, nur bei der Anwendung der intracisternalen Injektion konnten in den Fällen, bei denen es zum Auftreten

---

[58] With, A. C.: Siehe Heffters Handb., Ergänzungsband **6**, S. 180 (1938). — [59] Brink, C. D., u. R. Rigler: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **145**, 321 (1929). — [60] Rothlin, E.: Klin. Wschr. **1933**, S. 25. — [61] With, A. C.: Siehe Heffters Handb., Ergänzungsband **6**, 148 (1938). — [62] Bouckaert, J. J., u. C. Heymans: Arch. int. **35**, 137 (1929). — [63] Bufanno, M., u. A. Masini: Riform. med. **43**, 891 (1927). — [64] Silberstein, F., u. S. Kessler: Biochem. Z. **181**, 333 (1927). — [65] Nitescu, J. J.: C. r. **98**, 1479 (1928). — [66] Rothlin, E.: Klin. Wschr. **1925**, S. 1437.

allgemeiner Erregungserscheinungen kam, eine deutliche Hyperglykämie festgestellt werden.

Die Beeinflussung des Blutbildes durch Ergotamin bestand in einer Abnahme der weißen Blutkörperchenzahl und einer Zunahme der Lymphocyten und Basophilen. Im Gegensatz zu diesen Befunden erzielte Pajevic[67] bei intravöser Injektion von 1 mg eine Leukocytenvermehrung.

Die Dauer der Ergotaminwirkung schwankte durchschnittlich zwischen 2—3 Stunden.

Schließlich soll noch ein eigenartiger Befund Erwähnung finden, den Mehes[68] erstmalig bei der intracisternalen Injektion von Morphium bei Katzen beschrieb. In Übereinstimmung zu den Befunden Mehes konnte bei intracisternaler Zufuhr von Ergotamin, Pilocarpin und Azetylcholin in hoher Dosierung und von Ergometrin in relativ kleinen Mengen ein Auftreten heftiger Juckanfälle beobachtet werden, das die Tiere zu anhaltendem Kratzen an Kopf, Nase und Ohr veranlaßte. Der Juckreiz war ausschließlich auf den Kopf beschränkt, wie dies Mehes bei Morphium in gleicher Weise feststellen konnte, setzte kurze Zeit nach der Injektion ein und hielt je nach dem angewandten Pharmakon eine halbe bis 1 Stunde lang an. Diese Beobachtungen sollen später eine weitere Ergänzung erfahren.

Zusammenfassung.

Es wird eine Methode angegeben, die es gestattet, bei am vegetativen System angreifenden Pharmaca eine Abgrenzung zentraler und peripherer Angriffspunkte vorzunehmen.

Sie beruht auf der Ermittlung quantitativer Unterschiede in der Wirkstärke dieser Stoffe auf bestimmte vegetativ innervierte Funktionen bei ihrem Einführen in den Organismus auf verschiedenen Zufuhrwegen. Ihre praktische Durchführung bestand einmal in der Festlegung der unteren Grenzdosen, die eine Änderung von Temperatur, Blutzucker und Blutstatus bei der Injektion unmittelbar in die Nähe der v.Z. durch eine Zufuhr über den L.-Weg auslösen. Im Vergleich hierzu wurde die unterste Dosierungsgrenze bestimmt, die bei der Einführung dieser Substanzen von der Peripherie aus in Form einer direkten Injektion in die Blutbahn genügt, zur Beeinflussung der gleichen vegetativen Funktionen. Für die Abgrenzung zentraler Angriffspunkte von peripheren Einflüssen erweist sich von ausschlaggebender Bedeutung die Berücksichtigung der Dosierung. Sie ist für die einwandfreie Durchführung des Nachweises einer spezifisch gerichteten Wirkung auf die v.Z. bei peripher wirksamen Substanzen notwendig, weil sich auch bei der Einführung in die L.-Räume ein Vordringen dieser Stoffe in die Peripherie nicht verhindern läßt. Es ist vielmehr stets auch bei dieser

[67] Pajevic, J.: C. r. **113**, 429 (1933). — [68] Mehes, J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 650 (1938).

Form der Applikation sekundär mit dem Einsetzen einer Resorption in die Blutbahn zu rechnen. Das bedeutet aber, daß auch bei der Injektion in die L.-Räume die Möglichkeit einer Beeinflussung der Gebilde der Peripherie gegeben ist, sobald hierzu Dosen Verwendung finden, die auch peripher wirksam sind.

Es gelten deshalb bei den eigenen Versuchen zentrale Angriffspunkte nur als gesichert, falls beim Einbringen direkt in das Hirngewebe mittels der intracisternalen Injektion unter Umgehung des Gefäßsystems bis zur Erreichung des Wirkungsortes Wirkungen auf die vegetativen Funktionen einsetzen in Dosen, die um ein Vielfaches die untere Grenzschwelle peripher wirksamer Gaben unterschreiten. Umgekehrt ist eine zentral gerichtete Wirkung vegetativer Pharmaca auszuschließen, falls bei der Injektion in den L. eine Beeinflussung des vegetativen Systems auf Gaben erfolgt, die im Bereich der peripher wirksamen Dosen liegen.

Es wurden auf diese Weise Pikrotoxin, Azetylcholin, Pilocarpin und ferner Adrenalin, Ergotamin und Ergometrin untersucht.

Bei den Versuchen mit Pikrotoxin konnte die bereits bekannte zentrale Wirkung auf die v.Z. bestätigt werden. Daneben sprechen die erhobenen Befunde beim Adrenalin und Pilocarpin zugunsten der Annahme direkter zentraler Angriffspunkte dieser Substanzen an den v.Z.

Beim Azetylcholin, Ergotamin und Ergometrin ist dagegen mit einer vorwiegenden peripheren Beeinflussung des vegetativen Systems zu rechnen. Zentrale Wirkungen stellen sich bei diesen Stoffen im Rahmen des Vergiftungsbildes ein. Dieses ist gekennzeichnet durch das Auftreten allgemeiner zentral-nervöser Symptome, bei denen die Möglichkeit einer Abgrenzung spezifischer Einflüsse auf die v.Z. entfällt.

Aus der medizinischen Universitätsklinik Bonn.

Homöopathische Arzneimittel — Nachprüfungen.

Von

P. Martini

in Gemeinschaft mit **L. Brückmer, K. Dominicus, A. Schulte** und **A. Stegemann.**

(Eingegangen am 12. Oktober 1938.)

Die Arzneimittelprüfungen der Homöopathen am Gesunden sollten von Anfang an eine vom Tier auf den Menschen übertragene experimentelle Pharmakologie sein und als solche die wissenschaftliche Grundlage der Homöopathie überhaupt. Diese homöopathischen Prüfungen beschränkten sich bis in die letzte Zeit fast durchaus auf subjektive Symptome bzw. Kriterien und unterscheiden sich schon dadurch grundsätzlich von der wissenschaftlichen Pharmakologie. Sie ließen dazu insgesamt jeden Schutz gegen die bei subjektiven Symptomen besonders drohenden Täuschungsmöglichkeiten vermissen, größtenteils waren die Versuchspersonen über die Mittel unterrichtet, die sie einnahmen, auch über die „voraussichtlich" eintretenden Erscheinungen; aber auch wenn dies nicht der Fall war, waren die Untersuchungen doch nie unwissentlich, die Versuchspersonen wurden nie kontrolliert, welche ihrerer Beschwerden vielleicht auch spontan oder suggestiv eingetreten wären, alles, was an Symptomen von der V. P. angegeben wurde, wurde dem Mittel zur Last gelegt, wenn nicht gerade andere handgreifliche Ursachen sich in den Vordergrund schoben.

Sogar die von Pharmakologen angestellten Nachprüfungen auf Grund subjektiver Symptome verschafften sich keine unwissentliche Kontrolle ihrer Versuchspersonen. Der schwache Anlauf, den H. Schulz in dieser Richtung machte, war völlig ungenügend, und Simonson und Richter, die 30 Jahre später am gleichen Institut die Ergebnisse von H. Schulz über Schwefel einer objektiven und subjektiven Nachprüfung unterzogen, schalteten überhaupt keine unwissentlichen Sicherungen ein. Ich werde auf diese beiden Arbeiten später bei unserem Bericht über unsere eigenen Untersuchungen mit Schwefel zurückkommen. Ich werde dann auch Gelegenheit haben, auf die Beweiskraft des objektiven Teils der letzteren Arbeit einzugehen.

In den letzten drei Jahren hat Schoeler aus der Waplerschen homöopathischen Poliklinik in Leipzig mehrere Arzneimittelprüfungen veröffentlicht (Phytolacca decandra, Apocynum cannabinum, Nerium oleander Acid. benz. und Graphit). Auch gegen Schoelers Versuchsanordnung ist einzuwenden, daß die von ihm festgestellten subjektiven Symptome nicht durch eine unwissentliche Kontrolle sichergestellt wurden. Meine Bedenken

gegen die kausale Auswertung seiner eigenen objektiven Ergebnisse werde ich bei der Besprechung unserer eigenen Ergebnisse mit Schwefel vorbringen. Eine Frage, die von grundsätzlicher Bedeutung werden wird, falls es zu einer allgemeinen Neuauflage der homöopathischen Arzneimittelprüfungen kommen sollte, sei hier schon aufgerollt, die Frage der Dosierung. Die Hochpotenzler — also bis D_{30} und mehr — sind in Deutschland seit längerer Zeit in Verruf; die ernsthafteren Homöopathen haben sich der Beweisführung der wissenschaftlichen Medizin, daß so große Verdünnungen letzten Endes überhaupt keine Moleküle des Arzneimittels mehr zu enthalten brauchen, letzten Endes doch nicht entziehen können. Ebenso wurden aber auch die älteren Arzneimittelprüfungen am Gesunden zum sehr großen Teil mit recht hohen Potenzen von D_{10} und mehr[1] durchgeführt, und nichts findet sich in dieser Literatur, das darauf hinweisen würde, daß den Prüfern die mit höheren Potenzen gefundenen Symptome weniger eindeutig und weniger glaubhaft erschienen wären als die mit tiefen Potenzen und mit Urtinktur. Es bedeutet also jedenfalls einen Widerspruch mit dem, was man bisher unter „homöopathischen Arzneimittelprüfungen" verstanden hat, wenn Schoeler höhere Potenzen als D_2 für seine neuen Arzneimittelprüfungen ausschaltet, und eine Prüfung, die zugleich eine Nachprüfung der bisherigen Grundlagen der Homöopathie sein will, wird auf die Einbeziehung der höheren Potenzen in ihre Prüfungen nicht verzichten können.

Wir haben bis jetzt Sepia, Bryonia, Secale und Schwefel einer Prüfung am Gesunden unterziehen können; Sepia wurde zweimal geprüft.

Versuchsanordnung.

Unsere eigenen Arzneimittelprüfungen wurden großenteils an Studenten der verschiedenen Fakultäten vorgenommen, die sich aus dem Bekanntenkreis der einzelnen Prüfungsleiter rekrutierten; der andere Teil setzt sich aus Personen zusammen, die den Prüfungsleitern irgendwie nahestanden, aus Familienangehörigen usw. Zur objektiven Prüfung des Schwefels wurden nur Pfleger der Klinik herangezogen. Soweit Studenten sich an den Prüfungen als Versuchspersonen („Prüfer") beteiligten, versprachen sie mir durch Handschlag, nur die reine Wahrheit zu sagen. Die meisten der Prüfer standen der Frage der Homöopathie gleichgültig gegenüber, einige sympathisierten mit ihr, andere lehnten sie wahrscheinlich innerlich ab.

Etwaige unwissenschaftliche Einstellungen der Versuchsteilnehmer wären aber auch durch die Versuchsanordnung unschädlich gemacht worden. Wir haben sowohl dann, wenn wir objektive Kriterien benutzten, wie in den häufigeren Fällen, wo wir uns mit subjektiven Symptomen begnügten, uns immer eine Vergleichsgrundlage unserer Beobachtungen verschafft, indem wir die Perioden, in denen das der Untersuchung unterworfene Mittel verabreicht wurde, abwechseln ließen mit Perioden, in denen nur ein Schein-

[1] Hahnemann selbst prüfte mit Potenzen bis D_{200}, andere aber mit noch viel kleineren.

mittel (seltener überhaupt kein Mittel) gegeben wurde. Diese „Pseudomittelperioden" waren von doppelter Wichtigkeit bei den Prüfungen auf Grund subjektiver Symptome; die Prüfer wußten nie, was sie verabreicht bekamen, ob Pseudomittel, ob echtes Mittel, erst recht waren ihnen die jeweiligen Potenzen unbekannt; nur eine solche unwissentliche Versuchsanordnung garantiert auch dort, wo nur subjektive Symptome zur Verfügung stehen, ein zuverlässiges Urteil. Die mit ihr gewonnenen Resultate erhalten aber auch sofort einen höheren Rang, eine erheblich größere Glaubwürdigkeit als die bisherigen."

Wir werden an Einzelbeispielen demonstrieren, wie die erhobenen subjektiven und eventuell objektiven Befunde das „Arzneiprüfungsbild" der einzelnen Versuchspersonen zusammensetzen. Ein Überblick über die Gesamtresultate der Prüfung eines Mittels kann auf diese Weise allein aber nicht gegeben werden; schon aus räumlichen Gründen können nicht alle Protokolle in extenso veröffentlicht werden. Wir haben deshalb außerdem in einer tabellarischen Zusammenstellung die Symptome und die Häufigkeit ihres Vorkommens für alle Versuchspersonen zahlenmäßig vermerkt, und zwar einerseits für die Zeit, in der das zu prüfende Mittel selbst gegeben wurde, andererseits in der Zeit der Scheinmittelverabreichung.

I. Sepia.

Der Tintenfisch = Sepia officinalis L. lebt im Mittelmeer, in der Nordsee und im Atlantischen Ozean. Das 20—30 cm lange Tier enthält in seinem Innern eine traubige, dicke Blase (6 : 3) cm), die sich zur Mundöffnung des Tieres hin trichterförmig erweitert und einen schwarzbraunen, fischartig riechenden Saft enthält. Dieser Saft wird zur Verteidigung im Augenblick der Gefahr ausgespritzt. Technische Verwendung findet dieser Saft in der Farbbereitung. Hahnemann prüfte als erster den getrockneten Saft, nachdem er bei einem Maler hartnäckige nervöse Beschwerden beobachtet hatte, die er als Sepiawirkung ansprach. Die wirksamen Bestandteile des getrockneten Sepiasaftes sind bisher noch nicht festgestellt worden. Neben Kalksalzen enthält er einen dunklen zu den Melaninen zu rechnenden Farbstoff (Rabe).

Das bisher aufgestellte „Sepiaarzneibild" (Heinigkes, Stauffer, Cl. Müller) ist sehr symptomenreich; wir können es hier nur in seinen wichtigsten Zügen wiedergeben: Sepia wirke besonders auf das Nerven- und das venöse Gefäßsystem. Leichte Ermüdbarkeit, Stimmung schlecht. Die Versuchsperson werde ärgerlich, reizbar, weinerlich, traurig, niedergeschlagen, indifferent; Pflichten gegenüber gleichgültig, hoffnungslos, lebensüberdrüssig. Starke, stechende Kopfschmerzen sollen auftreten und sich beim Gehen und Bewegen des Kopfes verschlimmern. Die Schmerzanfälle können auch auf eine Kopfhälfte beschränkt sein. Gefühl von Auseinanderpressen des Kopfes beim Bücken. Blutandrang zum Kopf. Schwindel. Blasse Gesichtsfarbe.

Auch Veränderungen an den Sinnesorganen werden berichtet. An den Augen Conjunktivitis, Lidschwellung, Tränenfluß, Zucken der Lider. Das Sehvermögen werde verschlechtert: trübsichtig, schwachsichtig, weißes Flimmern, Lichtscheu. Am Ohr Kribbeln und Jucken, Sausen und Pfeiffen. Die äußere Nase entzünde sich, Geschwüre an den Nasenlöchern, Nasenbluten.

Der Kreislauf werde stark alteriert. Venöse Blutstauungen, besonders im Gebiet der Vena cava inferior. Gefäßspasmen mit Blutmangel der einen Körperregion sollen mit Gefäßerweiterungen und Blutüberfüllung der anderen abwechseln. Herzklopfen und Stechen in der Herzgegend mit Blutwallungen in Brust und Kopf und Hitzgefühl. Nachtschweiße. An den Atmungsorganen sollen katarrhalische Veränderungen mit Schleimauswurf, trockenem Husten, Seitenstechen entstehen: Trockenheitsgefühl in Kehlkopf und Trachea mit Hustenreiz, Übelkeit und Würgen. Schnupfen. Kurzatmigkeit und nächtliche asthmatische Anfälle. Zusammenschnürungsgefühl auf der Brust.

Die Verdauungsorgane sollen auch in Mitleidenschaft gezogen werden. Blutendes, schmerzhaftes Zahnfleisch, belegte Zunge, Herpes labialis, trockene Mundhöhle, übler Geschmack im Munde, Eßgier oder Abneigung vor Speisen, saures, bitteres Aufstoßen, Brennen im Schlunde, Wasserzusammenlaufen im Munde mit Übelkeit und Brechreiz, Magenschmerzen, Magendrücken, Auftreibung des Magens und Bauches, schneidendes Leibweh mit Stuhldrang, besonders des Nachts und bei Körperbewegung, Stiche in der Lebergegend, krampfartige Empfindungen am Darm, Völlegefühl, Leerheitsgefühl, Blähungen, vergeblicher Stuhldrang, schleimige, blutige, wässerige Stühle, Tenesmen, Hämorrhoiden, Wundheitsschmerz.

An der Haut wurden juckende, flechtenähnliche Flecken beobachtet, die sich zu Geschwüren umbilden können.

Die Einwirkungen auf die Harnorgane sollen sich in häufigem Harndrang, auch des Nachts, mit brennendem Schmerz in der Urethra, unwillkürlicher Harnentleerung, Blasenkrampf, verringerter, später vermehrter Harnausscheidung äußern. Erregung des Geschlechtstriebes mit nächtlichen Pollutionen und geilen Träumen. Entzündung der Glans penis. Ziehen in den Testes.

Bei Frauen sollen Sensationen am Uterus auftreten. Zu frühe, zu schwache Menstruation, vor der Menstruation Gebärmutterkolik. Preßempfindungen im Uterus, Fluor albus mit Jucken und entzündlichen Affektionen an den äußeren Genitalien und Schmerzhaftigkeit der Beine. In der Brust drückende, brennende Schmerzen.

An den Extremitäten sollen sich Muskelkrampf, Ziehen, Reißen, Gelenkschwellungen, Hühneraugenschmerzen, Kreuzschmerz, Einschlafen der Füße, Ziehschmerz im Schultergelenk, bis in die Finger ausstrahlend, einstellen.

Die Homöopathie verwendet Sepia, soweit man überhaupt von einer Anwendung nach einer Krankheitsdiagnose sprechen darf, bei chronischem Tripper der Frau, bei klimakterischen Beschwerden und bei nervösen, schwächlichen Männern. Allerdings ist damit die homöopathische Sepia-Anwendung bei weitem nicht erschöpft.

Die vollständigste Zusammenstellung der homöopathischen Arzneimittelprüfungen findet sich bei T. F. Allen[1a]; er weiß von 45 Prüfungen. Ein großer Teil der Autoren macht keine oder nur höchst dürftige Angaben über die Dosen der zur Prüfung verwandten Verreibungen bzw. Lösungen. Von den deutschen Autoren Groß[2], Hartlaub[3], Mayer[4] verliert V. Mayer kein Wort über die von ihm überreichten Mengen, Groß gibt in einem als Fragment veröffentlichten Protokoll an, daß er einmal mit 8^{00} geprüft hat und ein zweites Mal durch „Riechen an Sepia", und der Hart-

[1a] Allen, T. F.: Encyklopedia of pure mat. med. New York-Philadelphia 1878. B. VIII. 600. — [2] Groß: Archiv f. homöop. Heilkunst **19**, 187. — [3] Hartlaub: Allg. homöop. Ztg. **10**, 151 u. 170. — [4] Mayer, V.: Allg. homöop. Ztg. **78**, 145.

laubsche als „Arzneimittelprüfung" im homöopathischen Schrifttum geführte Bericht bringt nur Untersuchungen bzw. Behandlungen an Kranken und diese in der 30. (!) Potenz. In Amerika[1] und England[5] wurde Sepia laut Allen[1] und Hughes und Darke[5] wesentlich häufiger untersucht, aber mit ungewöhnlich kleinen Dosen; als niedrigste Dosis findet sich vereinzelt die 3. Potenz, weitaus am häufigsten wurde mit der 30. Potenz geprüft, vereinzelt aber auch mit der 6000.![1]

Wir prüften im ganzen 30 Personen; unsere schwächste Potenz war D_{10}; 16 von 30 Versuchspersonen wurden auch mit Urtinktur geprüft. Unsere Dosierung war also weitaus stärker als die jeder uns bekanntgewordenen homöopathischen Sepiaprüfung.

A. Versuchsreihe K-Dominicus.*

Die Beobachtungen erstreckten sich hier lediglich auf subjektive Symptome.

Prüfer I. F. G. cand. med., 24 Jahre, bisher gesund, etwas nervös und unruhig, peinlich genau, hat einen empfindlichen Magen. Im Frühjahr und Herbst häufig Magenbeschwerden. Beobachtungsdauer 46, davon 22 Sepiatage.

Geprüft: D_{10} (3mal 5 Gl.) 9, D_5 (3mal 5 Gl.) 6, D_3 (3mal 5 Gl.) 2 Tage: D_{10} (3mal 15 Gl.) 5 Tage.

Sepia	Pseudomittel
3mal tägl. 5 Gl.	
	Globuli sacchari lactis.
	6. VI. Keine Beschwerden.
	7. VI. Keine Beschwerden.
	8. VI. Keine Beschwerden.
Sepia D_{10}.	
9. VI. Nach dem ersten Einnehmen leichte Magenschmerzen, die sich mittags nach dem zweiten Einnehmen verstärken. Abends noch stärkere Magenschmerzen. Starker Brechreiz. Er nimmt wegen dieser Beschwerden Neutralon. Danach Besserung. Nachts Wachwerden vor Schmerzen in der Magengegend. Nach nochmaligem Einnehmen von Neutralon schwinden die Beschwerden. — Zweimal Stuhlgang, keine Diarrhöe.	
10. VI. Da die Beschwerden anhalten, nimmt er heute nicht ein. Während eines Spaziergangs grüngelbliches Erbrechen.	

[5] Hughes u. Darke: Cyklopädia of drug. pathogenisy. London-New-York 1891, Vol. IV.

* Siehe dazu Dominicus, K.: Homöopathische Arzneimittelprüfungen am gesunden Menschen mit Sepia. Inaug.-Diss. Bonn 1937.

11. VI. Heute noch die gleichen Magenbeschwerden, deshalb nimmt er nicht ein.
12. VI. Trotz gleicher Magenbeschwerden nimmt er weiter ein.
13. VI. Keine Beschwerden mehr.
14. VI. Keine Beschwerden.

Sepia D_5.

15.—20. VI. Keine Beschwerden.

Sepia D_3.

21. VI. Keine Beschwerden.
22. VI. Kopfschmerzen an der linken Schädelhälfte (hat er häufiger an dieser Stelle).

Glob. sacch. lact.

27. VI.—6. VII. Keine Beschwerden.

Glob. sacch. lact.

7.—16. VII. Keine Beschwerden.

Sepia D_{10}.

17.—19. VII. Keine Beschwerden.

Nachprüfung (3 mal tägl. 15 Gl.).

Glob. sacch. lact.

28. XI. Keine Beschwerden.
29. XI. Keine Beschwerden.
30. XI. Keine Beschwerden.
1. XII. Nachmittags Leibschmerzen, Übelkeit, Brechneigung.

Sepia D_{10}.

2. XII. Leibschmerzen, Übelkeit, Brechneigung.
3. XII. Leibschmerzen, Übelkeit, Brechneigung.
4. XII. Die gleichen Beschwerden, nimmt deshalb 3mal Neutralon.
5. XII. Die gleichen Beschwerden, nimmt deshalb wieder 3mal Neutralon.

Glob. sacch. lact.

6. XII. Leibschmerzen, Übelkeit, Brechneigung. Er nimmt deshalb 3mal Neutralon.
7. XII. Die gleichen Beschwerden. Er nimmt 3mal Neutralon.

8. XII. Am Tage keine Beschwerden. Abends Diarrhöen. (Die Versuchsperson erkrankt an leichter Grippe. Es besteht Grippeepidemie!)
9. XII. Leibschmerzen, Übelkeit, Brechneigung, Diarrhöe (Grippe?).
10. XII. Die gleichen Beschwerden.

Während die Versuchsperson unter „Sepiaeinwirkung" stand, traten folgende Befindenveränderungen auf:

Magenschmerzen. D_{10}.
Erbrechen. D_{10}.
Brechreiz. D_{10}.
Nachts Wachwerden vor Magenschmerzen. D_{10}.
Übelkeit. D_{10}.
Kopfschmerzen in der linken Schädelhälfte. D_3.

Diese Symptome traten in 3 von 5 Sepiaperioden auf.

Die 5 Pseudomittelperioden weisen folgende Symptome auf:

Leibschmerzen.
Übelkeit.
Brechneigung.
Diarrhöe (Grippe!).

Diese Symptome traten in 2 von 5 Pseudomittelperioden auf.

Die Symptome der Sepia- und der Pseudomittelperioden ähneln sich offenbar sehr; dies und die Beobachtung, daß gerade bei einer so hohen Potenz wie D_{10} (!) die Hauptbeschwerden auftreten, schließen eine spezifische Sepiawirkung aus. Eher könnte man an eine Wirkung des sowohl in den Sepiastreukügelchen, wie in den Scheinmitteln enthaltenen Milchzuckers denken. Dagegen spricht aber, daß in den meisten Perioden trotz Milchzucker keine Erscheinungen auftraten. So können die beobachteten Beschwerden nur als zufällige Attacken des empfindlichen Magendarmtrakts des Prüfers gedeutet werden.

Prüfer II. F. B. cand. med., 24 Jahre, bisher immer gesund. Beobachtungsdauer 25 Tage, davon 16 Sepiatage.

Geprüft: D_{10} 2, D_5 3, D_3 9, D_1 2 Tage, jeweils 3mal 5 Gl.

Am 2. Tage der D_{10}-Verabreichung empfindet er „alles wärmer als andere Leute", und er blieb an diesem Tage auffallend unbeeinflußt durch unangenehme Angelegenheiten, über die er sich sonst aufregen würde. Das Symptom tritt nur an 1 Tage von 16 Sepiatagen auf. Außer D_{10} wurden auch D_1, D_3 und D_5 geprüft, ohne daß in ihnen Beschwerden aufgetreten wären.

Prüfer III. B. K., cand. med., 24 Jahre, früher immer gesund, leidet seit einiger Zeit an chron. Nebenhöhleneiterung und häufigen Verstopfungen leichterer Natur. Beobachtungsdauer 40 Tage, hiervon 20 Sepiatage.

Geprüft: D_{10} 3, D_5 3, D_3 7, D_1 4 Tage, jeweils 3mal 5 Gl.

Bei Sepia D_{10} „krampfartige Leibschmerzen, Kollern im Bauch, leichte Diarrhöe und sehr guter Schlaf", in einer 2. D_{10}-Periode treten die Erscheinungen aber nicht mehr auf. Bei tieferen Potenzen (siehe auch Gesamttabelle) keine Symptome, obwohl auch D_1, D_3 und D_5 geprüft wurden.

Prüfer IV. J. H., cand. med., 24 Jahre, seit Jahren häufig Angina, vor einigen Jahren Appendektomie, nervös, „melancholisch veranlagt". Beobachtungsdauer 32 Tage, davon 24 Sepiatage.

Geprüft: D_{10} 3, D_5 3, D_3 12, D_1 2 Tage, jeweils 3mal tägl. 5 Gl., später D_{10} 4 Tage tägl. 3mal 15 Gl.

Unter D_1, D_3 und D_5 keine Beschwerden außer an 2 Tagen. Hungergefühl (D_3) und 1mal große Müdigkeit (D_3). Während einer 1. D_{10}-Periode von 3 Tagen werden Kopfschmerzen, Leibschmerzen und Harndrang angegeben; bei einer 2. 4tägigen D_{10}-Periode treten keine Beschwerden mehr auf.

Prüfer V. Frl. A. F. cand. med., 24 Jahre, bisher stets gesund. Beobachtungsdauer 39, davon 16 Sepiatage.

Geprüft: D_{10} 3, D_5 7, D_3 3, D_1 3 Tage, jeweils 3mal tägl. 5 Gl.

Während der Scheinmittelperiode Magen-Darmkatarrh, der sich noch 3 Tage in die D_{10}-Periode erstreckt; er war nach Angabe des Prüfers Erkältungsfolge, sonst o. B.

Prüfer VI. K. K., Musiker, 39 Jahre alt, stets blasses Aussehen, litt vor einigen Jahren an Wanderniere und Nierenstein und wurde deshalb operiert; hat empfindlichen Magen. Beobachtungsdauer 42 Tage, davon 20 Sepiatage.

Geprüft: D_5 4, D_3 4, D_1 4, D_1 2, D_1 5, Urtinktur 5 Tage, jeweils 3mal 10 Gl. bzw. 3mal 15 Tropfen.

Während der Einnahme von D_5 treten Magen- und Darmbeschwerden auf, ebenso bei D_1, während 4 Tage unter D_3 völlig beschwerdefrei verlaufen, und unter Urtinktur keine Magen-Darmerscheinungen angegeben werden. Dagegen erscheinen während der Urtinktur und der D_1-Periode nervöse Beschwerden. Auch die Scheinmittelperiode ist nicht frei von Beschwerden, aber diese sind seltener, und in den Sepiaperioden treten alle Symptome stärker auf. Auffällig ist, daß die Magen-Darmerscheinungen nicht nur während D_3-Verabreichung fehlen, sondern daß sie auch durch die Urtinktur nicht hervorgerufen werden und schließlich mahnt auch die Tatsache, daß die Magen-Darmerscheinungen in einer 2. D_1-Periode nicht reproduziert werden können, zur Vorsicht.

Es handelte sich um eine Versuchsperson, die jahrelang Nierenkrank war und einen empfindlichen Magen besitzt.

Prüfer VII. Frl. A. W., Haustochter, 17 Jahre alt, seit $1^1/_2$ Jahren amenorrhöisch, leicht anaemisch, schlechter Appetit, aber sonst abs. Wohlbefinden. Beobachtungsdauer 43, davon 20 Sepiatage.

Geprüft: D_5 2, D_3 4, D_1 2 Tage, jeweils tägl. 3 mal 10 Gl., D_5 8 Tage, jeweils 3mal 15 Gl.

Verwertbare Beschwerden — Müdigkeit, Mißstimmung, unruhiger Schlaf — treten überhaupt nur in der 1. D_5-Periode auf, während die D_1- und die D_3-Periode ganz beschwerdefrei verlaufen. Dazu lassen sich die in der 1. D_5-Periode beobachteten Beschwerden in 2 weiteren D_5-Perioden nicht wieder reproduzieren.

Prüfer VIII. Frau H., Hausfrau, 53 Jahre alt, etwas nervös, in den letzten Jahren häufig rezidivierende Tonsillitis und Pharyngitis, leichtes neuralgisches Ziehen in den Beinen, im übrigen gesund. Beobachtungsdauer 41 Tage, davon 22 Sepiatage.

Geprüft: D_5 3, D_3 4, D_1 2 + 5, Urtinktur 5 Tage, jeweils 3mal 10 Gl. bzw. 3mal 10 Tr.

Sepia	**Pseudomittel**
3mal tägl. 10 Gl.	Glob. sacch. lact.
6. und 7. VIII. Keine Beschwerden.	

Sepia D_5.

8. VIII. Keine Beschwerden.
9. VIII. Auffallend gleichgültig und unangenehmen Angelegenheiten gegenüber, über die sie sich sonst aufregen würde.
10. VIII. Gleichgültig und ruhig. Etwas mißgestimmt.

Glob. sacch. lact.

11. VIII. Ruhig.
12. VIII. Keine Beschwerden.
13. VIII. Leichte Kopfschmerzen.

Sepia D_3.

14.—17. VIII. Keine Beschwerden.

Glob. sacch. lact.

18. und 19. VIII. Keine Beschwerden.

Sepia D_1.

20. VIII. Kopfschmerzen, die morgens und abends besonders stark sind.
21. VIII. In der letzten Nacht sehr schlecht geschlafen, fast gar nicht. Sehr starke Kopfschmerzen in der ganzen Stirngegend (früher bei Übelsein nur in der rechten Stirnpartie).
Sehr nervös, innere Unruhe. In der folgenden Nacht sehr schlechter, unruhiger Schlaf. Sie warf sich vor Unruhe und Nervosität im Bett hin und her, ohne einschlafen zu können.

Aqua dest. 3mal 3 Tr.

22. VIII. Kopfschmerzen in der Stirnpartie. Schlechtes, blasses Aussehen.
23. VIII. Keine Beschwerden.
24. VIII. Keine Beschwerden.

Nachprüfung.

Glob. sacch. lact. 3mal 10 Gl.

30. IX.—3. X. Keine Beschwerden.

Sepia D_1 3mal tägl. 10 Gl.

4.—8. X. Keine Beschwerden.

Aqua dest. 3mal tägl. 10 Tr.

9. X. Keine Beschwerden.
10. X. Müdigkeit und guter Schlaf.
11. X. Etwas müde.
12. X. Etwas müde (sie führt die Beschwerden der letzten paar Tage auf den herrschenden Wetterumschlag zurück).

Sepia-Urtinktur 3mal tägl. 10 Tr.

12. X. Abends: 1mal 10 Tr.

13. X. Morgens beim Aufstehen starke Kopfschmerzen, aber erst beim Erheben des Kopfes. Schlecht gelaunt.

14. X. Nach schlechtem Schlaf morgens beim Aufstehen sehr müde und starke Kopfschmerzen. Schlecht gelaunt. Nachts stark geträumt. Blasses, müdes Gesicht. Sehr abgespannt.

15. X. In der letzten Nacht schlecht und unruhig geschlafen, stark geträumt. Nervös und reizbar, sehr müde und abgespannt, geht deshalb des abends früh zu Bett. Blasses, müdes Aussehen. Sodbrennen (sonst nie!).

16. X. In der letzten Nacht unruhiger, traumreicher Schlaf. Am Morgen nicht ausgeruht, noch sehr müde. Beim Aufstehen starke Kopfschmerzen, die den ganzen Tag anhalten. Beim Bücken starker Blutandrang zum Kopf, dann hämmernder Kopfschmerz. Durch Bewegen verstärken sich die Kopfschmerzen. Tagsüber mißgestimmt, nervös rappelig, abgespannt, müde, leicht gereizt.
Nachmittags legte sie sich etwas hin, danach sehr müde, wie zerschlagen, alles tat ihr weh, schwindlig. Sie fühlt sich zu müde und abgespannt zum Arbeiten. Blasses Aussehen. Hitzewallungen zum Kopf. Sie fand es überall sehr warm. Sodbrennen.

Aqua dest. 3mal tägl. 10 Tr.

16. X. Abends: 1mal eingenommen.

17. X. Sie fand es in der letzten Nacht sehr warm im Bett (sie hatte aber am Abend vorher warm gebadet!).

18. X. Keine Beschwerden.

19. X. Keine Beschwerden.

Die einseitige Belastung der 1. Sepia D_1-Periode (20. und 21. VIII.) und der Urtinkturperiode (12.—16. VIII.) durch „nervöse" Symptome ist unbestreitbar. Diese Beobachtung verliert aber an Wert einerseits durch die Tatsache, daß Kopfschmerzen auch in den Pseudo-Perioden auftreten, so am 13. VIII. und am 22. VIII.,

andererseits dadurch, daß durch eine 2. längere D_1-Periode (4., 5., 6., 7. August) keinerlei Beschwerden hervorgerufen werden.

Die D_3- und die D_5-Periode waren ganz beschwerdefrei.

Prüfer IX. Frl. M. J., 20 Jahre alt, Hausgehilfin, kräftig und gesund, träumt seit Jahren nachts sehr stark. Beobachtungsdauer 67 Tage, davon 35 Sepiatage.

Geprüft: D_5 3, D_3 4, D_1 2, D_5 4, D_3 5, D_1 4, Urtinktur 5 Tage, jeweils 3mal 10 Gl. bzw. Tr. D_5 4, D_5 4 jeweils 3mal 15 Gl.

Weder in der Urtinktur-, noch an den Sepia D_1- und D_3-Perioden treten irgendwelche Beschwerden auf. Nur die D_5-Perioden weisen Symptome auf und zwar die 1. Periode an 1 von 3 Tagen Blähungen, die 2. an 1 von 4 Tagen stärkere stechende Leibschmerzen mit starken Blähungen [sonst hatte die V. P. wohl mal leichte Stiche im Bauch, aber nicht so heftig]; auch abends hatte sie noch keinen Appetit und konnte nichts essen. Am 2. Tage dieser Periode waren die Leibschmerzen verschwunden, in der Nacht zu diesem Tage hatte sie ganz ungewöhnlichen Harndrang. Nachdem aber die beiden weiteren Sepia D_5-Perioden von je 4 Tagen völlig beschwerdefrei verliefen, müssen diese kurzfristigen Erscheinungen der beiden ersten Perioden als zufällig gewertet werden. Daß die V. P. in den beiden Tagen nach den Leibschmerzen unruhig schlief und mißgestimmt war, dürfte sich zwanglos aus diesen Belästigungen heraus erklären.

Prüfer X. O. L., Volksschullehrer, 41 Jahre alt, im Kriege machte er Typhus durch, seitdem stets gesund. Beobachtungsdauer 20 Tage, davon 11 Sepiatage.

Geprüft: D_5 3, D_1 T Tage, jeweils 3mal 15 Gl.; Urtinktur 4 Tage tägl. 3mal 10 Tropfen.

Die Urtinkturperiode blieb ganz beschwerdefrei, in der D_1-Periode waren 2 Nächte, in der D_5-Periode war 1 Nacht durch schlechten Schlaf mit unruhigen Träumen gestört.

Stärkere Beschwerden treten in den Scheinmittelperioden auf in der 3., in der Aqua dest. als Medikament gegeben wurde; er bemerkte am 1. Tage der Verabreichung schon ein Krampfgefühl in der Herzgegend, das er sonst nie gehabt hatte. Eine Regelhaftigkeit läßt der Versuch jedenfalls nicht erkennen.

Prüfer XI. Frau I. L., Hausfrau, 28 Jahre alt, früher stets gesund, nach einer Geburt mehrere Monate nierenkrank, nach einer 2. Geburt nicht mehr krank gewesen. Beobachtungsdauer 26, hiervon 17 Sepiatage.

Geprüft: D_{10} 3, D_5 3, D_3 3, D_1 4 Tage, jeweils 3mal tägl. 15 Gl., Urtinktur 4 Tage, 3mal tägl. 10 Tr.

Sepia	**Pseudomittel**
3mal tägl. 15 Gl.	
	Glob. sacch. lact.
	7. X. Keine Beschwerden.
	8. X. Nachmittags Kopfschmerzen und schlechte Laune. Die Beschwerden dauerten etwa $1^1/_2$ Stunden an. Die Versuchsperson führte die Beschwerden bestimmt auf die eingenommenen Globuli zurück.
	9. X. Keine Beschwerden.

Sepia D_{10}.

10.—12. X. Keine Beschwerden.

Sepia D_5.

13.—15. X. Keine Beschwerden. Sie fühlt sich sogar sehr frisch.

Sepia D_3.

16. X. Keine Beschwerden.

17. X. Mittags starke, dumpfe Kopfschmerzen in der Stirnpartie. — Da die Beschwerden bis abends anhielten, nahm sie Pyramidon ein. Darauf verschwanden die Beschwerden.

18. X. Keine Beschwerden.

Glob. sacch. lact.

19. X. Keine Beschwerden.

20. X. In der letzten Nacht schlecht geschlafen, stark geträumt. Nachmittags hämmernder Kopfschmerz, der nach Einnehmen von Pyramidon verschwindet.

21. X. Morgens: keine Beschwerden.

Sepia D_1.

21. X. Nachmittags: keine Beschwerden.

22. X. Starke Blähungen, abends sehr müde.

23. X. Gegen Abend müde.

24. X. Keine Beschwerden.

Aqua dest. 3mal tägl. 10 Tr.

24. X. Mittags: keine Beschwerden.

25. X. Sie konnte nicht richtig atmen, es war wie ein Druck auf der Brust (sie bemerkte diese Beschwerden erst, nachdem ihr Ehemann, Versuchsperson Nr. 10, ihr ähnliche Beschwerden schilderte). Sehr starker Appetit, sie wurde nicht richtig satt.

26. X. In der letzten Nacht war sie sehr wach und munter; sie war schon ab 2 Uhr wach.

Sepia-Urtinktur 3mal 10 Tr.

26. X. Mittags: keine Beschwerden.

27. X. Keine Beschwerden.

28. X. In der letzten Nacht unruhig und nervös geschlafen, stark geträumt.

29. X. Keine Beschwerden.

Die Beschwerden der 5 Sepiaperioden weisen in ihrer Häufigkeit und Intensität keinen Unterschied gegenüber den Beschwerden der Pseudomittelperioden auf. Die Wirkung der Autosuggestion tritt bei diesem Versuch besonders deutlich zutage. Während der Einnahme der Urtinktur und D_1 nur ganz vorübergehende nichtssagende Erscheinungen, unter D_5 und D_{10} überhaupt keine, etwas stärkere an einem Tage der D_3-Periode.

Prüfer XII. J. D., Gewerbeoberlehrer, 50 Jahre alt, leidet seit vielen Jahren an Superazidität des Magensaftes, nervös, leicht aufgeregt, starker Raucher. Beobachtungsdauer 49, hiervon 23 Sepiatage.

Geprüft: D_{10} 4, D_5 3, D_1 4, Urtinktur 3 Tage; D_{10} 4, D_5 4 Tage, jeweils 3mal tägl. 15 Gl. bzw. Tr.

Sepia	Pseudomittel
3mal tägl. 15 Gl.	
	Glob. sacch. lact.
	7. X. Keine Beschwerden.
	8. X. In der letzten Nacht erschien ihm alles so weit und leer, es kam ihm alles so leicht vor. Schlechter Geschmack im Munde. — Ruhig.
	9. X. Auffallend ruhig.
	10. X. Keine Beschwerden.
	11. X. Keine Beschwerden.
Sepia D_{10}.	
12. X. Keine Beschwerden.	
13. X. Müde, abgespannt, unruhig, leicht mißgestimmt, unzufrieden. Abends Beengung der Brust, Kurzatmigkeit, bekommt schlecht Luft. (Sonst nie solche Erscheinungen.)	
14. X. Nach gutem Schlaf morgens beim Sprechen kurzatmig, sprechmüde. Beengung der Brust. Müde, schwere Glieder, besonders in den Waden. Gegen Abend verstärken sich die Beschwerden. Er mußte beim Radfahren auf einer leicht ansteigenden Straße absteigen, weil er zu kurzatmig wurde. (Sonst nie!) — Blasses, müdes Aussehen. Abgespannt.	
15. X. Müde in den Waden, besonders gegen Abend. Er geht vor großer Müdigkeit früh zu Bett. (Sonst ganz selten!) Leichte Stiche in der Herzgegend. (Sonst nie!) In der folgenden Nacht unruhiger, traumreicher Schlaf.	

Glob. sacch. lact.

16. X. Am Mittag leichte Stiche in der Herzgegend. Noch etwas müde, aber nicht so wie gestern. Noch müde in den Waden, so schwere und schlaffe Beine. Nachmittags besonders müde.
Abends etwa 10 Minuten anhaltender Schmerz um den Kopf, ein beängstigendes Gefühl.
17. X. Morgens noch etwas müde in den Waden. Am übrigen Tage völlige Beschwerdefreiheit.
18. X. Keine Beschwerden.

Sepia D_5.

18. X. Mittags: nachmittags müde Beine und Füße, er stolpert, weil er die Füße immer zu tief hält. Krampfgefühl in den Waden.
19. X. Müde Waden und Füße wie gestern. Kurzatmigkeit.
20. X. Er nahm nachmittags nicht ein. Keine Beschwerden.

Glob. sacch. lact.

21. X. Morgens keine Beschwerden. Nachmittags war ihm, als wenn er Sand in den Augen hätte. In der letzten Nacht etwas unruhiger Schlaf.
22. X. Morgens keine Beschwerden. Nachmittags etwas müde in den Beinen.
In der letzten Nacht unruhiger, traumreicher Schlaf, häufiger Harndrang (5mal mußte er in der Nacht deshalb aufstehen!). Ein Gefühl in den Augen, als wenn Sand darin wäre.

Sepia D_1.

23. X. Nachmittags benommener Kopf, leichter Kopfschmerz (sonst nie). Wärmegefühl. Allgemeine Müdigkeit.
24. X. Nicht eingenommen. Keine Beschwerden.
25. und 26. X. Keine Beschwerden.

Sepia-Urtinktur.

27. und 28. X. Keine Beschwerden.
29. X. In der letzten Nacht Herzklopfen. Am Tage keine Beschwerden.

Nachprüfung.

3mal tägl. 15 Gl.

Glob. sacch. lact.

18. XI. Am Tage keine Beschwerden. In der folgenden Nacht unruhiger Schlaf, er schlief schlecht ein.
19. XI. Abends schlechtes Einschlafen. Nicht müde trotz 12 Uhr nachts.
20. XI. Mittags leichte Kopfschmerzen in der rechten Schläfe. (Sonst selten. Überarbeitung?).
21. XI. Keine Beschwerden.

Sepia D_{10}.

22.—25. XI. Keine Beschwerden.

Glob. sacch. lact.

26.—29. XI. Keine Beschwerden.
30. XI. und 1. XII. Keine Beschwerden.
2. XII. Grippegefühl, fröstelnd. Schmerzen in der rechten Hüfte (Erkältung? Zurzeit herrscht eine Grippeepidemie).
3. XII. Grippegefühl, fröstelnd. Abends besser.

Sepia D_5.

4.—7. XII. Keine Beschwerden.

Glob. sacch. lact.

8.—11. XII. Keine Beschwerden.

Während die Urtinktur und die D_1-Periode nur vereinzelte und geringe Beschwerden aufweisen, sind die D_5- und besonders die D_{10}-Periode sehr reich an Symptomen. 2 Kontrollperioden von D_5 und D_{10} bleiben dann aber ebenfalls völlig beschwerdefrei. Nimmt man dazu, daß ähnliche Beschwerden auch in den Scheinmittelperioden in noch größerer Menge auftreten, so wird es offenbar, daß hier der Zufall und auch die Autosuggestion der innerlich stark beteiligten Versuchsperson eine ausschlaggebende Rolle spielen. Spezifische Erscheinungen, die ursächlich auf Sepia bezogen werden könnten, sind jedenfalls nicht zu erkennen.

Prüfer XIII. Dr. P. B., Diplomhandelslehrer, 26 Jahre alt, kräftig, bisher stets gesund. Beobachtungsdauer 28 Tage, hiervon 21 Sepiatage.

Geprüft: D_{10} 5, D_5 6, D_3 3, D_1 3, Urtinktur 4 Tage, jeweils 3mal 15 Gl. bzw. Tr.

In der Urtinkturperiode und während D_1-, D_3- und D_{10}-Verabreichung wurden keinerlei besondere Symptome beobachtet; während der D_5-Einnahme fiel der Versuchsperson erst ihr ausnahmsweise guter Schlaf, dann ihre eigene Blässe, Müdigkeit und Abgespanntheit auf. Eine Diarrhöe während der Scheinmittelperiode hatte wohl in Obstgenuß ihren Grund. Allein schon die Geringfügigkeit und Seltenheit der unter Sepia D_5-Periode beobachteten Symptome läßt sie als unbeachtlich erscheinen.

Prüfer XIV. Dieser Versuch stellt einen Selbstversuch des Prüfungsleiters D. und damit einen nicht unwissentlichen Versuch dar. Er wird deshalb bei den weiteren Überlegungen und zur Beurteilung der Ergebnisse nicht mit

Tab

Homöopathisches Arzneimittelbild der Sepia	Symptomenhäufigkeit bei ver		
			Pote
	Urtinktur *U*	D_1	D_3
	. . . . . VI . VIII IX . XI XII XIII	. II III IV V VI VII VIII IX . XI XII XIII	I II III V VI VIII IX XI . X
Gesamte beobachtete Tage:	30	50	60
Ermüdbarkeit, Müdigkeit, Erschöpfung schon nach leichter Anstrengung	VII $^2/_5$	XI $^1/_4$ XII $^1/_3$	IV ^{1}/
Schlechte Stimmung, Reizbarkeit usw.	VIII $^1/_5$		
(Besonders gute Stimmung)			
Weinerlich, traurig, deprimiert usw.	VI $^1/_5$	VI $^1/_{11}$	
Indifferent, apathisch, gleichgültig geg. Pflichten usw.			
(Schlaf unruhig, schlecht)	VI $^1/_5$ VIII $^3/_5$	VI $^1/_{11}$ VIII $^2/_5$	
(Besonders guter Schlaf)			
Kopfschmerzen mäßig stark		XII $^1/_3$	
„ stark und stechend	VI $^2{}_5$ VIII $^3/_5$	VI $^2{}_{11}$ VIII $^1/_5$	XI ^{1}
„ manchmal einseitig			I $^1/_2$
Gefühl von Auseinanderpressen des Kopfes beim Bücken und Blutandrang zum Kopf	VIII $^1/_5$		
Schwindel			
Blässe	VIII $^3/_5$		VI ^{2}/
(Gefühl von abnormer „Leichtigkeit“)			
Augen: Bindehautentzündung, Lidschwellung, Tränenfluß; Liderzucken, Verschlechterung des Sehvermögens, Augenflimmern			
(Fremdkörpergefühl im Auge)			
Ohr: Kribbeln und Jucken, Sausen und Pfeifen			
(Schmerz im Ohr)			
Nase: außen entzündet, Geschwüre an Nasenlöchern, Nasenbluten			
Kreislauf: stark alteriert, venöse Blutstauung (bes. V. cava inf.), Gefäßspasmen in der einen, Gefäßerweiterung in der anderen Körpergegend, Herzklopfen			
Herzstechen, Herzkrampf			
Blutwallungen, Hitzegefühl, Nachtschweiße			
Atmungsorgane: Trockenheit in den oberen Luftwegen, mit Hustenreiz, Katarrh mit Schleimauswurf; trockener Husten			
Seitenstechen			
Kurzatmigkeit, (nächtliche) asthmatische Anfälle			
Zusammenschnüren auf Brust			
Verdauungsogane: Herpes labiales, blutendes schmerzhaftes Zahnfleisch, belegte Zunge, übler Geschmack im Mund			
Eßgier, (ungewöhnliches Hungergefühl)			IX ^{2}/
Appetitlosigkeit, Abneigung gegen Speisen			IX ^{1}
Saures, bitteres Aufstoßen	VIII $^2/_5$		

n Potenzen von Sepia				
D_5	D_{10}	Summe	Symptomenhäufigkeit bei Scheingaben	Summe
II III IV V VII VIII IX XI XII XIII	I II III IV V . . VIII . . XI XII XIII			
67	45	252		231
$I^{2}/_{16}$ $X^{1}/_{3}$ $VII^{1}/_{16}$ $VIII^{1}/_{3}$	$XII^{2}/_{8}$ $XII^{1}/_{8}$		(VI $^{2}/_{18}$) (VII $^{3}/_{18}$) (XII $^{1}/_{23}$) VII $^{2}/_{26}$ X $^{1}/_{19}$ XI $^{1}/_{19}$ IV $^{4}/_{8}$	
$^{1}/_{3}$ $VII^{2}/_{16}$ $VIII^{2}/_{3}$	$II^{1}/_{2}$		XII $^{1}/_{25}$	
$X^{1}/_{7}$ $X^{3}/_{3}$ $XIII^{3}/_{6}$	$XII^{1}/_{8}$ $IV^{1}/_{7}$		VII $^{1}/_{26}$ VIII $^{2}/_{22}$ IX $^{1}/_{32}$ XI $^{2}/_{9}$ XII $^{1}/_{26}$ VIII $^{2}/_{7}$ VI $^{3}/_{18}$ VI $^{3}/_{18}$ VII $^{1}/_{26}$ VIII $^{1}/_{18}$ IX $^{1}/_{32}$ XI $^{1}/_{9}$ VIII $^{1}/_{10}$ XI $^{1}/_{9}$ X II $^{1}/_{26}$ IV $^{4}/_{8}$	
$XIII^{1}/_{6}$	$XII^{2}/_{5}$		VIII $^{1}/_{18}$ X $^{1}/_{9}$ XII $^{1}/_{26}$	
			XII $^{2}/_{26}$ (XII $^{1}/_{26}$)	
	$XII^{2}/_{8}$		(XII $^{1}/_{26}$) X $^{1}/_{9}$	
$XII^{1}/_{7}$	$XII^{2}/_{8}$		XII $^{1}/_{26}$ XI $^{1}/_{9}$	
			XII $^{1}/_{26}$ IX $^{1}/_{9}$ IV $^{4}/_{8}$	

Tabelle

Homöopathisches Arzneimittelbild der Sepia	Symptomenhäufigkeit bei verse		
		Potenz	
	Urtinktur U	D_1	D_3
	. . . . . VI . VIII IX . XI XII XIII	. II III IV V VI VII VIII IX . XI XII XIII	I II III I V VI VI VIII IX XI . XII
Gesamte beobachtete Tage:	30	50	60
Brennen im Mund, Zusammenlaufen von Wasser im Mund mit Übelkeit			
Brechreiz			
Magenschmerzen und Magendrücken			
Auftreiben von Magen und Bauch (Leibschmerz)		VI $^{2}/_{11}$	
Stiche in Lebergegend			
Krampfartige Empfindungen im Darm			
Blähungen		IX $^{1}/_{6}$ VI $^{2}/_{11}$	
Stuhlgang vergeblicher, bes. nachts u. bei Bewegung			
Tenesmen, Hämorrhoiden, Völlegefühl			
(Leichte Durchfälle, weicher Stuhl)			
Schleimige, blutige, wässerige Stühle			
Haut: juck., flechtenartige Flecke bis zu Geschwüren			
Harnorgane: Harndrang, auch des Nachts mit Brennen in Harnröhre, unwillkürliche Harnentleerung, Blasenkrampf, Harnausscheidg. vermehrt, später vermindert			
Männliche Geschlechtsorgane: Erregung des Geschlechtstriebs, nächtl. Pollutionen, geile Träume, Entzündung des glans penis, Ziehen im Hoden			
Weibliche Geschlechtsorgane: Sensation am Uterus, Dysmenorrh. Uteruskrämpfe vor Menstruation; Presseempfindung im Uterus. Fluor alb. mit Jucken und Entzündungen an den äußeren Geschlechtsteilen und Schmerzhaftigkeit der Beine, Brustschmerzen			
Gliedmaßen: Muskelkrämpfe, Ziehen, Reißen			
Gelenkschwellg., Hühneraugenschm., Kreuzschm.			
Einschlafen der Füße, Ziehschmerzen in Schulter bis in Finger			
(Schwere müde Glieder)			
Allgemeines Unwohlsein: „Grippegefühl“ mit Frösteln			
Relative Symptomenhäufigkeit:	$^{16}/_{30} = 0{,}53$	$^{17}/_{50} = 0{,}34$	$^{6}/_{60} = 0{,}1$

In der Tabelle bedeuten die römischen Ziffern die Nr. der Versuchspersonen. D bezogen auf die Zahl der Tage, während derer die V. P. das Mittel in den einzelne

verwendet werden. Dafür ist er zur Erkennung der psychologischen Lage homöopathischer Prüfer von großem Interesse. Es muß betont werden, daß der Prüfungsleiter zurzeit dieses Selbstversuchs [d. h. vor den negativ ausgefallenen Nachprüfungen der Prüfer Nr. VII, Nr. IX (2. Nachprüfung) und Nr. XI] seinen Versuchsergebnissen gegenüber eher optimistisch eingestellt war. Wir verweisen auf das Versuchsprotokoll in der Diss. Dominicus (l. c.).

ortsetzung.

ien Potenzen von Sepia

D_5	D_{10}	Summe	Symptomenhäufigkeit bei Scheingaben	Summe
II III IV V I VII VIII IX XI XII XIII	I II III IV V . . VIII . . XI XII XIII			
67	45	252		231
			($I^{2}/_{33}$) ($V^{1}/_{23}$) $I^{6}/_{33}$ $VI^{1}/_{8}$	
$I^{2}/_{4}$ $IX^{2}/_{7}$	$I^{4}/_{14}$ ($V^{2}/_{3}$) $IV^{2}/_{7}$			
$VI^{2}/_{4}$	$III^{2}/_{3}$		$IX^{1}/_{32}$ $VI^{2}/_{18}$ $IX^{2}/_{32}$	
$I^{1}/_{4}$ $VII^{1}/_{16}$	$III^{1}/_{3}$		$II^{9}/_{20}$ $IV^{4}/_{8}$ ($X^{1}/_{9}$) $XIII^{1}/_{7}$	
	$IV^{4}/_{7}$		$IV^{4}/_{8}$ $IX^{1}/_{25}$ $XII^{1}/_{26}$	
$XII^{1}/_{7}$				
$XII^{2}/_{7}$	$XII^{1}/_{8}$		$XII^{1}/_{26}$ $XII^{2}/_{26}$	
$^{30}/_{67} = 0,44$	$^{30}/_{45} = 0,66$	$^{69}/_{252} = 3,9$		$^{92}/_{231} = 3,98$

uotienten danach kennzeichnen die Frequenz des Auftretens von Symptomen (Zähler), otenzen genommen hat (Nenner).

Überblickt man die Prüfungsergebnisse I—XIII, so bleiben nur die Versuche VI und VIII, in denen eine deutliche einseitige Belastung der Sepiaperioden gegenüber den Scheinmittelperioden erkennbar wird — und zwar sind es beide Male nervöse Symptome, die beide Male nur unter Urtinktur und D_1 auftraten. Das Gewicht dieser Beobachtung wird aber

dadurch verringert, daß die Beschwerden des Versuchs VIII in einer zweiten D_1-Periode nicht reproduzierbar waren, und daß sie in diesem Versuch auch in der Scheinmittelperiode auftraten. In den fünf weiteren Versuchen, in denen Urtinktur gegeben wurde, traten keine oder nur ganz unwesentliche und uncharakteristische Symptome auf, und es bestand ganz allgemein keine Proportion zu der verabreichten Dosis, im Gegenteil waren die Perioden, in denen D_{10} verabreicht wurde, fast durchweg am symptomreichsten. Der relativen Symptomenhäufigkeit nach folgten sich die verschiedenen Perioden in der Reihenfolge: D_{10} 0,66, Urtinktur 0,53, D_5 0,44, D_1 0,34, D_3 0,1 (siehe Tabelle 1). Die einseitigen Belastungen der Versuche VI und VIII sind nicht so auffällig, daß sie mehr als einen Fingerzeig bedeuten könnten.

In solcher Lage erschien es nützlich, sich die gesamten Symptome, die einerseits in den verschiedenen Sepiaperioden, andererseits in den Scheinmittelperioden beobachtet wurden, gemeinsam einander gegenüberzustellen, und, wenn dabei auch eine Schematisierung unvermeidbar war, zahlenmäßig miteinander zu vergleichen. Wir haben dies in Tabelle 1 versucht. Die Liste der Symptome ist den bisherigen homöopathischen Zusammenstellungen entnommen.

Die römischen Zahlen bezeichnen die einzelnen Versuchspersonen. Bei den hinter den römischen Zahlen stehenden Quotienten bedeutet der Nenner die Gesamtzahl der Tage, in denen das zu prüfende Mittel, bzw. in denen die Scheinmittel verabreicht wurden, der Zähler dagegen stellt die Häufigkeit dar, mit der die betreffenden Symptome innerhalb der Prüfungszeit auftraten. Die einzelnen Brüche sind an sich ein Maß für den Grad und die Bedeutung der Symptome in einer Periode, die Summe der Brüche, die den einzelnen Symptomen zugehören, kennzeichnet die Bedeutung der einzelnen Symptome und zwar sowohl in den echten Prüfungszeiten wie in den Scheinprüfungszeiten. Insofern ist eine Möglichkeit gegeben, diese beiden Vergleichspartner nun zahlenmäßig gegeneinander abzumessen.

Bei einem solchen zahlenmäßigen Vergleich stellt sich heraus, daß die Belastungen sich in den beiden Vergleichszeiten im allgemeinen die Waage halten. Beim Vergleich der Summen der Gesamtsymptome überwiegt sogar die Symptomensumme von 99 in 252 Tagen $\left(\frac{99}{252} = 3{,}9\right)$ während der Sepiaperioden, gegenüber 92 Symptomen in 231 Tagen $\left(\frac{92}{231} = 3{,}98\right)$ während der Scheinmittelperioden. Dabei haben wir von den Symptomen der Scheinmittel eine ganze Reihe (alle in Klammern gesetzten) eliminiert als verdächtig anderer Ursachen, während wir bei den Sepiasymptomen keine derartigen Eingriffe vornahmen.

B. Versuchsreihe A. Schulte*.

In dieser Versuchsreihe waren nur Studenten als Prüfer beteiligt. Die Beobachtungen bezogen sich hier nicht nur auf subjektive Symptome,

* Siehe dazu Schulte, Armand: Nachprüfung des homöopathischen Arzneimittelbildes der Sepia. Inaug. Diss. Bonn 1938. Hier sind auch die ausführlichen Versuchsprotokolle veröffentlicht.

sondern auch auf einige objektive Merkmale, und zwar auf Pulsfrequenz, Blutdruck, Blutstatus und Blutkörperchensenkungsbeschleunigung. Die verschiedenen Potenzen der Sepia wurden zum Ausschluß einer Milchzuckernebenwirkung nicht mehr in (Milchzucker-) Streukügelchen, sondern als Lösungen tropfenweise verabreicht.

Die Dosierung wurde diesmal höher gewählt als in der 1. Versuchsreihe; sie ist für jeden Prüfer einzeln vermerkt.

Prüfer XV. H. H., Student, 23 Jahre, früher nie ernstlich krank gewesen. Anfälligkeit für Magen-Darmaffektionen. Er fühlt sich zurzeit gesund und beschwerdefrei. Sehr wenig Alkohol, Kaffee und Tee. Infektio venerea neg. Größe 1,77 m, Gewicht 74 kg. Allgemeinzustand gut. Innere Organe ohne pathologischen Befund. Thoraxdurchleuchtung o. B. Etwas nervös und leicht erregbar. Mißtrauischer Beobachter ohne besonders kritische Begabung. Zuverlässig und gewissenhaft. Beobachtungsdauer 75 Tage, davon 38 Sepiatage.

Geprüft D_8 (3mal 3 bis 3mal 30 Tr.) 7 Tage, D_7 (3mal 10 bis 3 mal 30) 3 Tage, D_6 (3 mal 10 bis 3mal 30) 3 Tage, D_5 (3mal 10 bis 3mal 30) 7 Tage, D_2 (3mal 20) 18 Tage.

Verbrauch an Sepia etwa 0,43 g.

a) Subj. Symptome. Erst nach einer 6tägigen Vorbeobachtung ohne irgendwelche Verabreichung und nach 6tägigen Scheingaben von Aqu. dest. setzen die Gaben von Sepia ein. Schon in diesen ersten 12 Tagen fühlte H. H. sich mehrfach tagsüber müde und abgespannt, spürte Druckgefühl im Magen und Blähungen von wechselnder Stärke. In der D_8-Periode hielten die Störungen durch die Blähungen täglich an, dazu hatte H. H. über unruhigen, traumreichen Schlaf und auffallende Zerstreutheit zu klagen; in den folgenden 3 Tagen der D_7-Periode traten ebenfalls abends noch Blähungen auf, während über Zerstreutheit nicht mehr geklagt wurde. Die folgende 3tägige D_6-Periode und auch die unmittelbar darauffolgende 7tägige D_5-Periode waren völlig frei von subjektiven Beschwerden. In der letzten Sepiaperiode D_2 war in den ersten Tagen einmal Müdigkeit und Abgespanntheit und einmal Blähungen zu vermerken, nach 10 Tagen an 2 Tagen leichtes Druckgefühl im Magen. Alle diese Symptome traten aber in nicht geringerer Häufigkeit auch in den Kontrollperioden auf, gleichviel ob in diesen kein Scheinmittel oder Aqua dest. oder Alc. 50% (3mal 20 Tr.) gegeben wurde. Daß die weitaus stärkste Häufung der Symptome in der 8. Potenz auftrat, läßt erst recht nicht an eine kausale Beziehung glauben.

b) Objektive Merkmale. Die Pulsfrequenz schwankte mit einer Streuung von $\pm$ 7 um einen Mittelwert von 61 in der Minute ohne eine zeitliche Beziehung zu den verschiedenen Sepiaperioden weder im Blutbild, noch an der Blutkörperchensenkungsveränderung erkennen zu lassen.

Prüfer XVI. K. S., Student, 21 Jahre. Mit 4 Jahren Typhus, mit 6 Jahren beiderseitige Augenentzündung. Chronisch-rezidivierende Mandelentzündung, 3mal Mandelabszeß, zum letztenmal vor 2 Jahren. Genußgifte in mäßigen Mengen. Appetit gut. Schlaf gut. Stuhlgang und Wasserlassen in Ordnung. Inf. ven. neg. Zur Zeit fühlt er sich ganz gesund und beschwerdefrei. Psychisches Verhalten: ruhig und Vernünftig. Größe 1,77 m. Gewicht 63,5 kg. Allgemeinzustand mäßig, asthenischer Habitus. Systolische Unreinheit über die Herzspitze, sonst kein pathologischer Befund. Thoraxdurchleuchtung o. B. Beobachtungsdauer 77 Tage, davon 39 Sepiatage.

Geprüft: D_8 (3mal 20) 21, D_4 (3mal 3 bis 3mal 20 Tr.) 17, 6, D_3 (3mal 10 bis 3mal 30) 6, D_2 (3mal 5 bis 3mal 30) 6 Tage.

Gesamtverbrauch an Sepia 0,16 g.

a) Subjektive Symptome. In der Vorbeobachtungszeit bzw. unter Aqua dest. 2mal Husten- und Kopfschmerz und Müdigkeit (wahrscheinlich durch Erkältung) und mehrmals Appetitlosigkeit mit Unlustgefühlen, Unwohlsein und starkem Brechreiz.

Während der ebenso langen Zeit der Sepiaverabreichung fühlte der Prüfer sich an 1 Tage abgespannt und müde (während D_3) und hatte (während D_8) 1mal 2 Stunden lang stechende Schmerzen im rechten Unterbauch. Sonst immer o. B. Es wurden also während der Pseudoperioden mehr Symptome beobachtet als während der Sepiaperioden und die in diesen auftretenden Beschwerden waren ganz uncharakteristisch.

b) Objektive Merkmale. Die Pulsfrequenz streut mit $\pm$ 9 um den Mittelwert 80 in der Minute ohne Beziehung zu den verschiedenen Perioden. Die Schwankungen des Blutdrucks, des Hb., der Erythrocyten, der Leukocyten und der Blutkörperchensenkung hielten sich innerhalb der gewöhnlichen Schwankungs- und Fehlerbreiten; eine größere Abnahme des Hb. von 97% auf 74%, glich sich während der weiteren Sepiaeinnahme wieder völlig aus.

Für irgendeine Sepiawirkung findet sich hier weder objektiv noch subjektiv ein Anhaltspunkt.

Prüfer XVII. F. K., Student, 20 Jahre. Vorgeschichte und Lebensweise ohne Besonderheiten. Zurzeit fühlt er sich gesund und beschwerdefrei. Ruhiges und korrektes Wesen, nicht leicht beeinflußbar. Größe 1,76 m. Gewicht 80,5 kg. Allgemeinzustand gut. Innere Organe ohne nachweisbaren pathologischen Befund. Thoraxdurchleuchtung o. B. Beobachtungsdauer 75 Tage, davon 34 Sepiatage.

Geprüft: D_8 (3mal 5 bis 3mal 30) 15, D_3 (3mal 20) 19 Tage.

Gesamtverbrauch an Sepia 0,05 g.

a) Subjektive Symptome. Während der Vorbeobachtung und während der Scheinmittelperioden gibt der Prüfer mehr Symptome als während der Sepiaperioden an. Alle Symptome, die während Sepia angegeben wurden, treten mit fast gleicher Häufigkeit auch in den Pseudoperioden auf (Obstipation, Arbeitsunlust, unruhiger Schlaf). Nur Appetitlosigkeit (1mal während D_8), uncharakteristische Verdauungsbeschwerden (2mal in D_3) und Kopfschmerzen (1mal in D_3) wurden nur während Sepia beobachtet; dafür treten aber wesentlich mehr andere Symptome mit erheblich größerer Häufigkeit in den Zeiten auf, in denen keine Sepia gegeben worden ist: Müdigkeit, Abgespanntheit, lebhafte Verdauung, Blähungen, Schnupfen, Husten, Zerstreutheit, Sodbrennen, Druckgefühl und Verschleimung im Hals.

b) Objektive Merkmale. Die Pulsfrequenz schwankt in normalen Grenzen, der Blutdruck bleibt gleich, ebensowenig ändern sich weißes Blutbild und Blutkörperchensenkung. Das Hb. sinkt in 25 Tagen während Sepiaverabreichung von 99 auf 87%, die Erythrocyten in der gleichen Zeit von 4,7 auf 3,6 Mill*.

Die Ergebnisse des Prüfers geben keinen Anhalt für eine spezifische Sepiawirkung.

Prüfer XVIII. F. C., Student, 24 Jahre, grippeanfällig, sonst Vorgeschichte und Lebensweise ohne Besonderheiten. Fühlt sich zurzeit gesund und beschwerdefrei. Größe 1,76 m. Gewicht 70 kg. Allgemeinzustand gut. Innere Organe ohne Besonderheiten. Thoraxdurchleuchtung: im rechten Hilus finden sich einige erbsen- bis bohnengroße kalkdichte Flecken; das Zwerchfell ist rechts medianwärts etwas ausgezipfelt. Sonst ohne Besonderheiten. Ruhiges und selbstbewußtes Auftreten, nichts Auffälliges. Beobachtungsdauer 73 Tage, davon 40 Sepiatage.

* Die Bestimmungen der Blutwerte sind in dieser ganzen Untersuchungsreihe nicht oft genug erfolgt, um als sichere Unterlagen regelhafter Veränderungen verwendet werden zu können.

Geprüft: D_8 (3mal 3 bis 3mal 10) 6, D_7 (3mal 10 bis 3mal 20) 3, D_6 (3mal 10 bis 3mal 20) 3, D_5 (3mal 5 bis 3mal 30) 10, Urtinktur (3mal 20) 18 Tage.

Gesamtverbrauch an Sepia etwa 4,32 g.

a) Subjektive Symptome. Am 1. Tage der D_8-(!) Periode treten Druck und Beklemmung über der Herzspitze auf und am 2. Tage Druckschmerzhaftigkeit über dem li. M. pect. maj. Ähnlich werden am 1. Tage der D_5-Periode 3—4 Stunden langes starkes Herzklopfen und Beklemmung angegeben und in den ersten 6 Tagen der (18tagelagen) Urtinkturperiode wurde der Puls als arrhythmisch, sehr durch- und leicht unterdrückbar bezeichnet*. An den Sepiatagen wurde im übrigen nur vereinzelt (1mal) Zerstreutheit (D_8) und 1mal allgemeine Nervosität (D_6) geklagt.

In den Scheinperioden wurden andere aber zahlenmäßig mehr Symptome vermerkt (Schmerzen im rechten Knie 4mal, reichliche Blähungen, zeitweise Leibschmerzen, Kratzen im Hals und Schmerzen mit leichtem Fiebergefühl 5mal).

b) Objektive Merkmale. Pulsfrequenz, Blutdruck, rotes Blutbild und Blutkörperchensenkung ohne Veränderungen. Vor Beginn der Sepiaverabreichung liegen die Werte für die Gesamtleukocyten und die neutrophilen Leukocyten etwas niedrig 4700 und 51%, sie steigen während der folgenden Sepiaeinnahme auf normale Zahlen an. Die Abweichungen sind zu gering, um für sich allein irgendwie gewertet werden zu dürfen.

Prüfer XIX. J. G., Student, 22 Jahre. Familien- und eigene Vorgeschichte o. B. Fühlt sich jetzt gesund und beschwerdefrei. Größe 1,75 m, Gewicht 71 kg, Allgemeinzustand gut, leicht hypertrophische Tonsillen, systolische Unreinheit über allen Ostien, sonst kein nachweisbarer pathologischer Befund. Thoraxdurchleuchtung o. B. Ruhiges, nüchternes Wesen. Beobachtungsdauer 76 Tage, hiervon 32 Sepiatage.

Geprüft: D_8 (3mal 5 bis 3mal 30) 8, D_7 (3mal 5 bis 3mal 30) 6, D_0 (3mal 20) 18 Tage.

Gesamtverbrauch an Sepia etwa 4,32 g.

a) Subjektive Symptome. Während der gesamten Beobachtungszeit wird überhaupt nur 1mal eine Beschwerde angegeben und zwar leichte Kopfschmerzen während Aqua dest.; auch während der Urtinkturperiode kein einziges subjektives Symptom.

b) Objektive Merkmale. Die Pulsfrequenz steigt im Verlauf der Sepiaverabreichung von einem Durchschnittswert von etwa 66 auf einen Durchschnitt von etwa 76 in der Minute; aber auch während einer zwischen die Sepiaperioden eingeschalteten Scheintherapie bleibt die Herzfrequenz auf dieser Höhe. Keine wesentlichen Veränderungen des Blutdrucks, der Blutkörperchensenkung und des Blutbildes.

Prüfer XX. H. H., Student, 23 Jahre. Als Kind Masern, Keuchhusten und Mumps, mit 11 Jahren Gelenkrheumatismus, in den letzten Jahren oft Anginen und Stirnhöhlenkatarrhe. Seit Dezember 1935 des öfteren unklare Beschwerden im rechten Oberbauch oder in der Magengegend; die eingehende stationäre Untersuchung hatte keinen eindeutigen Befund ergeben; der Verdacht auf chron. Cholangitis war geäußert worden. Sonst Befunde und Lebensweise o. B. Fühlt sich zurzeit gesund und beschwerdefrei. Größe 1,72 m. Gewicht 60 kg. Allgemeinzustand mäßig, leises systolisches Geräusch über allen Ostien; sonst Kreislauf und übrige innere Organe o. B. Thoraxdurchleuchtung o. B. Ruhenüchternwert normal. Beobachtet sich selbst übergenau und etwas ängstlich. Häufiger wegen der ver-

* Diese Pulsunregelmäßigkeiten usw. konnten nicht objektiv kontrolliert werden.

schiedensten Beschwerden in ärztlicher Behandlung. Beobachtungsdauer 66 Tage, davon 36 Sepiatage.

Geprüft: D_8 (3mal 10 Tr.) 12, Urtinktur (3mal 5 Tr.) 6, D_8 (3mal 20) 18 Tage. Gesamtverbrauch an Sepia etwa 1,26 g.

a) Subjektive Symptome. Während der beiden relativ langen D_8-Perioden wird mehrmals Drücken im rechten Oberbauch oder im Magen angegeben, vereinzelt Kopfschmerz, leichter Druck hinter dem Brustbein und in der Umgebung des li. Auges. Unter Urtinktur wird einmal über Schmerz über der li. Tibia geklagt, sonst nichts. Auch während der Scheinperioden finden sich Klagen: nach Aqua dest. wird H. H. einmal plötzlich schläfrig; unter Alkohol befällt ihn ein starker Schnupfen. Die Oberbauch- und Magenbeschwerden sind an sich unverwertbar, da der Prüfer auch sonst viel darüber klagt.

b) Keine nennenswerte Veränderung der objektiven Merkmale.

Prüfer XXI. O. D., Student, 22 Jahre, aus gesunder Familie. Mit 13 und 19 Jahren, Nierenentzündung; nach Tonsillektomie schlagartige Besserung. Sonst keine Störung oder Anfälligkeiten. Lebensweise geregelt, o. B. Zurzeit gesund und beschwerdefrei. Größe 1,85 m, Gewicht 74 kg, Allgemeinzustand gut, systolisches Geräusch über der Herzspitze. Sonst, auch bei Thoraxdurchleuchtung, kein pathologischer Befund. Psychisch unauffällig. Beobachtungsdauer 75 Tage, davon 35 Sepiatage.

Geprüft: D_8 (3mal 3 bis 3mal 6) 7, D_7 (3mal 10 bis 3mal 30) 3, D_6 (3mal 30 Tr.) 7, D_4 (3mal 20 Tr.) 14 Tage.

Gesamtverbrauch an Sepia etwa 0,003 g.

a) Subjektive Symptome. Es treten sowohl unter Sepia, wie in den Scheinperioden nur wenig charakteristische Erscheinungen auf wie Müdigkeit allgemeines Unwohlsein, Kopfschmerz, Magenbeschwerden, fader Geschmack, Durchfall in der Zeit der Scheinmittelverabreichung und Müdigkeit, allgemeines Unwohlsein, Leibschmerz mit Blähung (in D_8) und Kopfschmerz und Müdigkeit (in D_4). Die anderen Sepiazeiten verlaufen ganz beschwerdefrei. Die Beschwerdehäufigkeit überwiegt stark bei den Scheingaben.

b) Nach 20 Tagen, in denen D_8, D_7 und D_6 nacheinander verabreicht wurde, wurden 10% Hb. weniger (85% statt 95%) und wurden einige 100000 Erythrocyten weniger gemessen; die Leukocytenzahl stieg in der gleichen Zeit um 800; lauter Veränderungen, die innerhalb der Fehlerbreite liegen. Sonst keine Veränderungen des Blutes, noch der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit, noch der Pulsfrequenz und des Blutdrucks.

Eine Sepiawirkung ist ganz unwahrscheinlich.

Prüfer XXII. N. E., 19 Jahre, Student. Aus gesunder Familie. Zwischen 10. und 16. Lebensjahre jährlich mindestens 1 Angina; deshalb mit 16 Jahren Tonsillektomie R., sonst eigene Vorgeschichte o. B. Lebensweise geregelt, sehr wenig Genußgifte. Fühlt sich zurzeit gesund und beschwerdefrei. Gewicht 65 kg, Allgemeinzustand gut, linke Tonsille stark vergrößert, gerötet, zerklüftet, Eiterpfropf enthaltend. Über der Lunge hinten rechts unten einige R. G.-Leistenbruchoperationsnarbe R. Thoraxdurchleuchtung o. B. Psychisch unauffällig.

NB. Der Prüfer kuriert sich im Bedarfsfall selbst mit homöopathischen Arzneimitteln, er nimmt z. B. bei Halsschmerzen gern Zinnober D_{20} (!) und schreibt ihm eine gute Wirkung zu. Beobachtungsdauer 76 Tage, hiervon 38 Sepiatage.

Geprüft: Urtinktur (3mal 3) 3, Urtinktur (3mal 10) 3, D_2 (3mal 10 bis 3mal 30 Tr.) 3, D_3 (3mal 10 bis 3mal 30) 3, D_4 (3mal 5 bis 3mal 30) 6, D_8 (3mal 20), 20 Tage.

Gesamtverbrauch an Sepia etwa 0,48 g.

a) Subjektive Symptome. Sowohl während der Vorbeobachtung (bzw. Aqua dest.), wie während mehrerer Sepiaverabreichungen (Urtinktur D_2 und D_8) wird mehrfach über Erscheinungen geklagt, die mit der chronischen Tonsillitis zusammenhängen dürfen, so Hals- und Kopfschmerz, Erkältung usw.; dazu kommen während der Vorbeobachtung noch Halsschmerzen, während der Urtinkturzeit 1mal Magenschmerzen und Müdigkeit und während der D_8-Periode ein Ohnmachtsanfall. Die Beschwerden während der Sepiaverabreichungen überwiegen hier, sie treten während der D_8-Periode aber nicht in geringerer Menge auf als während der Urtinktur; vielleicht könnten die Magenschmerzen (1mal) und Müdigkeit (3mal) mit der Sepia D_0 bzw. D_2 zusammenhängen, aber es ist alles viel zu uncharakteristisch und vereinzelt, als daß aus diesem Falle für sich etwas geschlossen werden dürfte.

b) Objektive Merkmale. Die Pulsfrequenz macht uncharakteristische Schwankungen. Blutdruck und Blutkörperchensenkung bleiben unverändert, ebenso das rote und weiße Blutbild.

Prüfer XXIII. G. L., Student, 23 Jahre, Familien- und eigene Vorgeschichte o. B. Lebensweise, körperlicher und geistiger Zustand ohne Besonderheiten. Gewicht 78 kg. Beobachtungsdauer 54 Tage, hiervon 31 Sepiatage.

Geprüft: D_8 (3mal 3 bis 3mal 6) 6, D_7 (3mal 10 bis 3mal 30) 3, D_6 (3mal 10 bis 3mal 30) 3, D_5 (3mal 5 bis 3mal 30) 7, Urtinktur (3mal 20) 12 Tage.

Verbrauch an Sepia 2,88 g.

a) Subjektive Symptome. Insgesamt traten mehr Symptome während der Pseudoperioden als während Sepia auf. Nur bei Sepia erschienen Aufstoßen, Durchfall, Benommenheit (unter D_7 und D_8!) und vom 1. Tage der Urtinkturperiode an fast täglich Ohrenstechen bzw. Ohrenschmerzen. Dafür treten aber nur während der Pseudoperioden eine so große Menge Beschwerden auf, daß eine Auswertung im Einzelfall unmöglich erscheint.

b) Objektive Merkmale. Pulsfrequenz, Blutdruck, Blutkörperchensenkung und rotes Blutbild änderten sich nicht. Die Leukocyten waren zu Beginn der Sepiaperioden erhöht auf 11200 (ohne ersichtlichen Grund) und sanken während D_8, D_7, D_6 und D_3 auf die Norm ab.

Prüfer XXIV. K. M., Student, 22 Jahre, Familien- und eigene Vorgeschichte o. B., ebenso Lebensweise, fühlt sich gesund und beschwerdefrei. Gewicht 65 kg. Innere Organe ohne krankhaften Befund, ebenso Thoraxdurchleuchtung. Psychisches Verhalten unauffällig. Beobachtungsdauer 25 Tage, hiervon 13 Sepiatage.

Geprüft: D_4 (3mal 3 bis 3mal 10) 6. D_3 (3mal 10 bis 3mal 30) 4, D_2 (3mal 10 bis 3mal 30) 3 Tage.

Verbrauch an Sepia etwa 0,09 g.

a) Subjektive Symptome. Als einziges Symptom, das nur unter Sepia vorkommt, findet sich Seitenstechen unter D_4 und dies nur 1mal während 6 Tagen; alle übrigen Beschwerden finden sich auch in den Pseudoperioden und während dieser wird obendrein über Müdigkeit und Arbeitsunlust geklagt.

b) Keine verwertbaren objektiven Veränderungen.

Prüfer XXV. H. R., Student, 23 Jahre, eigene und Familiengeschichte, Lebensgewohnheiten usw. o. B. Gewicht 78 kg. Bei Thoraxdurchleuchtung finden sich in bd. Hili Kalkherde; übriger Befund ganz normal. Psychisch unauffällig. Fühlt sich gesund und beschwerdefrei. Beobachtungsdauer 66 Tage, hiervon 35 Sepiatage.

Geprüft: D_4 (3mal 3 bis 3mal 30) 9, D_2 (3mal 20 bis 3mal 30) 3, Urtinktur (3mal 5) 6, D_8 (3mal 20) 17 Tage.

Gesamtverbrauch an Sepia etwa 1,31 g.

a) Subjektive Symptome. Das unter D_4 auftretende Aufstoßen (4mal) wird schon dadurch als Sepiafolge unwahrscheinlich, daß in der folgenden Urtinkturperiode überhaupt keine Symptome auftreten. Keinerlei charakteristische Erscheinungen.

b) Objektive Merkmale. Herzfrequenz, Blutdruck, Blutkörperchensenkung und rotes Blutbild ohne Veränderung; die Leukocyten steigen während D_4, D_2 und Urtinktur von 4800 auf 6600 (noch innerhalb der normalen Schwankungsbreite).

Prüfer XXVI. F. S., Student, 24 Jahre, eigene und Familienvorgeschichte, Lebensweise usw. o. B. Gewicht 64 kg; bei objektiver Untersuchung alles normal, bei Röntgendurchleuchtung lediglich Kalkherd im li. Unterfeld und im li. Hilus. Etwas nervös und reizbar, sonst psychisch unauffällig. Beobachtungsdauer 42 Tage, davon 30 Sepiatage.

Geprüft: Urtinktur (3mal 3 bis 3mal 6) 6, D_2 (3mal 10 bis 3mal 30) 3, D_3 (3mal 10 bis 3mal 30) 3, D_8 (3mal 20) 18 Tage.

Verbrauch an Sepia 0,39 g.

a) Subjektive Symptome. Schon vor dem Einsetzen der Sepiadosen wird über Magenschmerzen und Unwohlsein geklagt, am 4. Tage der Urtinktur vereinzelt Aufstoßen, weitere 2 Tage sind trotz Urtinktur beschwerdefrei, dann folgen unter D_2 3 Tage stärkere Magenbeschwerden mit Aufstoßen und Unwohlsein. Die späteren längeren D_3- und D_8-Perioden bleiben wieder ganz beschwerdefrei.

b) Objektive Merkmale. Keine Veränderungen.

Prüfer XXVII. H. W., Student, 24 Jahre, Mutter an Kehlkopftbc. gestorben, wahrscheinlich auch die Großmutter mütterlicherseits. Als Kind Keuchhusten, mit 13 Jahren Lungenentzündung, mit 18 Jahren Spontanpneumothorax. Bis vor 1 Jahr chron. Tonsillitis, deshalb Tonsillektomie. In der letzten Zeit häufiger Rippenfellreizung. Röntgendurchleuchtung und Aufnahme: alte wahrscheinlich inaktive Prozesse in beiden Lungenspitzen. Grundumsatz normal. Lebensweise geregelt und mäßig. Gewicht 60 kg, Größe 1,79 m. Allgemeinzustand genügend. Innere Organe o. B. Psychisch unauffällig. Fühlt sich zurzeit gesund und beschwerdefrei. Beobachtungsdauer 45 Tage, hiervon 33 Sepiatage.

Geprüft: D_8 (3mal 3 bis 3mal 6) 6, D_7 (3mal 10 bis 3mal 30) 3, D_6 (3mal 10 bis 3mal 30) 3, D_5 (3mal 15 bis 3mal 30) 10, D_4 (3mal 20 Tr.) 11 Tage.

Gesamtverbrauch an Sepia etwa 0,0026 g.

a) Subjektive Symptome. Nur ganz uncharakteristische Beschwerden unter Sepia besonders unter D_5, die offenbar auf eine interkurrierende Erkältungskrankheit zurückzuführen sind. Eine Sepiawirkung ist ganz unwahrscheinlich.

b) Keine Veränderung der objektiven Merkmale, die nicht im Bereich der normalen Schwankungsbreite liegen würde.

Prüfer XXVIII. K. Z., Student, 23 Jahre. Keine bemerkenswerten Krankheiten in der eigenen und in der Familienvorgeschichte. Lebensweise geregelt und mäßig. Größe 1,73 m. Gewicht 63 kg. Allgemeinzustand gut, innere Organe durchweg gesund. Psychisch unauffällig. Fühlt sich gesund und beschwerdefrei. Beobachtungsdauer 75 Tage, hiervon 36 Sepiatage.

Geprüft: Urtinktur (3mal 3 bis 3mal 6 Tr.) 6, D_2 (3mal 10 bis 3mal 30) 3, D_3 (3mal 10 bis 3mal 30) 4, D_4 (3mal 5 bis 3mal 20) 6, D_8 (3mal 20) 12 Tage.

Verbrauch an Sepia etwa 0,39 g.

a) Subjektive Symptome. Der Prüfer klagt auffallend häufig über „schlechte Verdauung"; er versteht darunter ein unklares, unbehagliches Gefühl in der Magengegend mit unregelmäßigem Stuhlgang, meist keine ausgesprochene

Verstopfung oder Durchfall. Die Beschwerden treten überwiegend in der Sepiazeit auf, aber viel häufiger unter D_8, als während der Urtinktur, und sie belästigen den Prüfer auch in einer Pseudoperiode, nachdem Sepia (zuletzt D_4) schon über 4 Wochen lang abgesetzt ist (9. VI. bis 9. VII.).

b) Keine irgend nennenswerten objektiven Veränderungen.

Prüfer XXIX. W. S., Student, 23 Jahre, Familie gesund. Mit 12 Jahren Entfernung von „Rachenwucherungen". In Bonn viel Nasen-Rachenkatarrh, der sich außerhalb Bonns immer bessert. Lebensweise geregelt und mäßig. Fühlt sich abgesehen von dem genannten Katarrh gesund und beschwerdefrei. Größe 1,80 m, Gewicht 69 kg. Tonsillen vergrößert und zerklüftet, auf der rechten Tonsille gelblicher Pfropf; verdickter Lymphstrang im Rachen. Innere Organe, auch bei Röntgendurchleuchtung o. B. Psychisch unauffällig. Beobachtungsdauer 48 Tage, hiervon 30 Sepiatage.

Verbrauch an Sepia etwa 1,2 g.

Geprüft: D_8 (3mal 3 bis 3mal 6) 6, D_7 (3mal 10 bis 3mal 30) 4, D_6 (3mal 10 bis 3mal 30) 4, D_5 (3mal 5 bis 3mal 30) 6, Urtinktur (3mal 10) 10 Tage.

a) Subjektive Symptome. Außer leichten Erkältungserscheinungen (durch Schnupfen) im Beginn von D_8 treten unter Sepia überhaupt keine Beschwerden auf. Während der Pseudoperioden doppelt soviel Beschwerden als unter Sepia.

b) Objektive Merkmale. Pulsfrequenz ohne Veränderung; die übrigen Merkmale nicht kontrolliert.

Prüfer XXX. Selbstversuch des Prüfungsleiters, 24 Jahre. Eigene Vorgeschichte ohne Besonderheiten. Wenig Alkohol, ziemlich Nikotin und Kaffee. Größe 1,76 m, Gewicht 67 kg. Innere Organe, auch Thoraxdurchleuchtung o. B. Fühlt sich gesund und beschwerdefrei. Dauer der Selbstbeobachtung: 36 Sepiatage.

Geprüft: D_8 (3mal 10 bis 3mal 20 Tr.) 9, D_7 (3mal 20) 3, D_6 (3mal 30) 5, D_5 (3mal 30) 3, D_4 (3mal 30) 3, D_2 (3mal 30) 6, Urtinktur (3mal 30) 7 Tage.

Verbrauch an Sepia etwa 2,74 g.

a) Subjektive Symptome. Es treten auf Halsschmerzen, Schnupfen, Husten, Kopfschmerzen, Nasenbluten, die von vornherein als Symptome einer in dieser Jahreszeit fälligen Erkältungskrankheit aufzufassen und als Sepiafolgen auszuschließen sind; dazu Kollern im Leib, Blähungen und 1mal Kopfschmerzen. Da diese Beschwerden aber lediglich bei D_8 und D_7 auftreten und bei keiner tieferen Potenz können auch sie als Sepiafolgen nicht anerkannt werden.

b) Von den objektiven Merkmalen sinkt der Blutdruck von 125 auf 100 mm Hg ab, aber die drei Bestimmungen sind offenbar viel zu spärlich für eine Verwertung. Die Blutkörperchensenkung ist von Anfang an niedrig und bleibt es (am Schluß 2). Die Erythrocytenwerte verhalten sich nicht regelmäßig.

	Hb	Rote Blutkörperchen	Weiße Blutkörperchen
17. I.	72	5620000	10000
4. VI.	86	4560000	8400
18. VI.	89	5000000	6600

Der Anstieg des Hämoglobins und das Absinken der Leukocyten sind immerhin bemerkenswert. Ohne weitere Bestätigung, die unsere übrigen Untersuchungen nicht ergaben, bleibt diese Beobachtung allein für sich aber wertlos.

Die Analyse der einzelnen Prüfungsprotokolle führt in dieser Versuchsreihe offenbar erst recht nicht zu irgendwelchen subjektiven Symptomen, die mehr oder weniger einseitig oder spezifisch in den Sepiaperioden auftreten würden. Im besonderen ist hier während der Sepiaverabreichung

Tab

	U	D_2	D_3
Gesamte beobachtete Tage:	95	39	39
Müdigkeit	1	2	2
Abgespanntheit			
Arbeitsunlust			
Unlustgefühl		2	
Unwohlsein			
Zerstreutheit			
Benommenheit			
Unruhiger Schlaf	1		2
Nervosität			
Fiebergefühl			
Erkältung			
Frieren			
Grippegefühl			
Schüttelfrost	1		
Kopfschmerz	1	2	1
Schwindel			
Ohnmachtsanfall			
Schmerz im linken Auge	1		
Stiche in den Ohren, Ohrenschmerz	8		
Zahnschmerzen			
Nase: Schnupfen			
Nasenbluten			
Kreislauf: Druck über Herzspitze			
„ „ M. pect.			
„ hinterm Brustbein			
Herzunregelmäßigkeit	6		
Atmungsorgane: Druck oder Kratzen im Hals			
Verschleimung im Hals			
Brustschmerz			
Seitenstechen			
Husten		6	
Hustenreiz			
Verdauungsorgane: Fader Geschmack			
Druck im Magen		2	
Magenbeschwerden	1	2	
Saures Aufstoßen	2	2	
Sodbrennen			
Brechreiz, Übelkeit			
Schlechte Verdauung	1		3
Lebhafte Verdauung			
Kollern im Leib			
Durchfall	1		
Leibschmerzen			
Schmerzen im rechten Unterbauch			
Druck im rechten Oberbauch			
Blähungen	1	1	
Obstipation			4
Uncharakterisierte Verdauungsbeschwerden			1
Schmerzen im rechten Knie			
Schmerzen in linker Tibiagegend			
Relative Symptomenhäufigkeit:	$^{25}/_{95} = 0{,}26$	$^{19}/_{39} = 0{,}48$	$^{13}/_{39} = 0$

D_4 61	D_5 42	D_6 25	D_7 28	D_8 192	Alle Sepia-perioden 521 Tage	Alle Pseudo-perioden 448 Tage
2				2	8	22
				1	3	1
				7	7	6
			2		2	
				3	6	4
		1			1	1
				1	1	4
				7	7	3
					0	4
	1				1	0
					1	0
4			1	2	11	16
					0	2
				1	1	0
				1	2	0
					8	0
				1	1	1
	4		1	4	9	4
	1			3	4	5
					6	0
			2	2	4	12
					0	1
						1
1					1	5
3	3	5	2		19	2
	1				1	0
					0	1
				4	6	6
				4	7	5
4				3	11	1
					0	1
1				8	13	14
					0	0
				2	2	0
	1		2	3	7	3
				1	1	3
				1	1	0
				2	2	0
3	7	4	3	9	28	15
				1	5	5
					1	0
						4
						1
$^{1}/_{61} = 0{,}29$	$^{19}/_{42} = 0{,}45$	$^{10}/_{25} = 0{,}4$	$^{13}/_{28} = 0{,}46$	$^{74}/_{192} = 0{,}38$	$^{189}/_{521} = 0{,}36$	$^{151}/_{448} = 0{,}34$

auch keine stärkere Belastung der Urtinkturzeit zu bemerken, eher im Gegenteil; eine einzige Ausnahme bildet der Prüfer XXIII (siehe aber dazu dessen Versuchsprotokoll).

Auch hier wäre zu erhoffen gewesen, daß Symptome, die im Einzelfall infolge ihrer geringen Auffälligkeit nicht erkennbar geworden wären, bei einer synoptischen Betrachtung der Ergebnisse aller Prüfer manifest würden. Wir haben deshalb ähnlich wie oben bei der Versuchsreihe Dominicus wiederum die gesamten subjektiven Symptome der Prüfer XV—XXIX gemeinsam geordnet in Tabelle 2.

Wir haben diesmal auf die Beziehung auf die einzelnen Versuchspersonen verzichtet, nachdem die Analyse der Einzelergebnisse uns doch nichts Positives aussagen konnte. Die Tabelle ist wiederum vertikal geordnet nach Symptomen, horizontal nach den in dieser Versuchsreihe geprüften Potenzen: Urtinktur, D_2, D_3, D_4, D_5, D_6, D_7, D_8. Die den Potenzen jeweils beigefügten Zahlen bedeuten die Gesamtzahl der Prüfungstage dieser Potenz bei den verschiedenen Prüfern. Außerdem wurde sowohl für die gesamten Sepia- wie auch für die gesamten Pseudoperioden (durch horizontale Summation) die absolute Häufigkeit der einzelnen Symptome für die gesamte Beobachtungszeit berechnet.

Aus der vertikalen Summation lassen sich sowohl für die einzelnen Potenzen wie für die gesamten Sepiaprüfungszeiten einerseits, Scheinmittelkontrollzeiten andererseits die gesamten Symptomhäufigkeiten berechnen. Bezieht man diese Häufigkeiten auf die zugehörigen Prüfungszeiten — diese betrugen bei den 14 Prüfern für die gesamten Sepiaperioden 521 Tage und für die gesamten Pseudoperioden 448 Tage — so erhält man relative Häufigkeiten, die miteinander vergleichbar sind.

Aus Tabelle 2 ergibt sich, daß von einer Überlegenheit der Symptomenhäufigkeit unter Sepia auch bei gemeinsamer Betrachtung aller Prüfungsergebnisse keine Rede sein kann. Vergleicht man die Häufigkeit der Einzelsymptome, so fallen zwar bei „Sodbrennen und Aufstoßen", bei „Blähungen", bei „schlechter Verdauung", bei „Husten" und bei „Ohrenstechen und Ohrenschmerzen" einseitige Belastungen der Sepiaperioden auf. Diese beiden letzten gehören aber gar nicht zu dem homöopathischen Symptomenbild der Sepia und wurden auch nur bei einem der 29 Prüfer (beider Reihen) beobachtet, und das Symptom Husten ist ganz auszuschalten, da es lediglich aus dem Selbstversuch XXX des Prüfungsleiters stammt, bei dem eine unwissentliche Kontrollperiode selbstverständlich fehlt; es handelte sich aber bei den Halsschmerzen, Schnupfen, Husten und Kopfschmerzen, über die der Prüfungsleiter als Versuchsperson zu klagen hatte, lediglich um Äußerungen einer heftigen Erkältungskrankheit, die ihn jedes Jahr und so auch dieses Jahr Ende Januar befiel. So bleiben noch die Störungen im Bereich des Magen-Darmkanals; aber auch hier haben wir Anlaß zu größter Skepsis, wenn wir sehen, daß sich diese Beschwerden keineswegs bevorzugt bei den tiefen Potenzen finden, daß sie vielmehr bei Urtinktur nicht nur absolut, sondern auch relativ seltener sind als bei den höheren Potenzen, insbesondere als bei D_8.

Etwas sehr Ähnliches ergibt sich, wenn wir die relativen Symptomhäufigkeiten, bezogen auf die einzelnen Potenzen, miteinander vergleichen; auch hier ist es keineswegs so, daß die tieferen Potenzen stärker mit Symptomen belastet wären als die höheren, vielmehr folgen sich die Potenzen in der Reihenfolge $D_8 = 0{,}8$, $D_2 = 0{,}48$, $D_7 = 0{,}46$, $D_5 = 0{,}45$, $D_6 = 0{,}4$, $D_3 = 0{,}33$, $D_4 = 0{,}29$, Urtinktur $= 0{,}26$, d. h. es ist überhaupt keine Ordnung da, und die wenigsten Symptome sind — sicher auch zufällig — unter der Urtinkturverabreichung aufgetreten.

Schließlich ist genau so wenig eine Häufung subjektiver Symptome zu entdecken, wenn man die Gesamtsymptomhäufigkeiten berechnet, auf die zugehörigen gesamten Prüfungszeiten bezieht und miteinander vergleicht: die sich ergebenden relativen Häufigkeiten $\frac{189}{521} = 0{,}36$ für Sepia und $\frac{151}{448} = 0{,}34$ für die Scheinmittel und Vorbeobachtungszeiten sind offenbar einander gleich.

Nach Ausweis der einzelnen Versuchsprotokolle waren auch die Veränderungen der objektiven Merkmale: Pulsfrequenz, Blutdruck, rotes und weißes Blutbild und Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit während der Sepiaverabreichungen regellos und meist unerheblich. Die Zusammenstellung der Blutuntersuchungsergebnisse in Tabelle 2 der Dissertation Arm. Schulte zeigt dies erst recht. Nur wer sich über die Spontanschwankungen und Fehlerbreiten unserer und seiner eigenen Blutuntersuchungen nicht im klaren ist, wird es wagen, aus solchen Resultaten Schlüsse auf kausale Einwirkungen zu ziehen.

Zusammenfassung.

Die Prüfung von Sepia an 30 Versuchspersonen mit gleichzeitigen unwissentlichen Kontrollen ergaben im Durchschnitt die gleichen Häufigkeiten subjektiver Symptome während der Sepiaverabreichung und während der Kontrollperioden. Auch öfteres Auftreten einzelner spezifischer Symptome während der Sepiaeinnahme konnte nicht beobachtet werden. Das einzige, das in diesem Zusammenhang bemerkenswert sein könnte, sind die bei zwei Prüfern (VI und VIII) unter Urtinktur und D_1 aufgetretenen nervösen Symptome; aber diese Beobachtung ist für sich allein unbeweisend. Besonders auffällig erscheint dagegen, daß in beiden Versuchsreihen die relative Symptomenhäufigkeit bei den tiefen Potenzen einschließlich Urtinktur eher geringer war als bei den höheren Potenzen (bis D_{10}).

Es ist natürlich möglich, daß noch wesentlich größere Mengen von Urtinktur spezifische Symptome, Beschwerden usw. verursachen können, aber die bisherigen, großenteils mit kleineren als den hier verwandten Potenzen aufgestellten homöopathischen „Symptomenbilder der Sepia“ entbehren nach unseren Untersuchungen der Tatsächlichkeit.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Über den Einfluß der Vagusreizung auf die Bewegungen des Dickdarms.

Von

Ed. Rentz (Riga).

Mit 12 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. August 1938.)

Der Einfluß der Vagusreizung auf die Peristaltik des Meerschweinchendünndarms in situ ist bereits von W. Straub und K. Stefánsson[1] untersucht worden. Unter Benutzung der gleichen Methodik werden in der vorliegenden Arbeit entsprechende Versuche am Dickdarm angestellt.

Die Kenntnisse über den Einfluß der Vagusreizung auf den Dickdarm sind noch spärlicher und widerspruchsvoller als jene bezüglich des Dünndarms[2]. Im allgemeinen nimmt man mit G. Böhm[3] (nach Versuchen an Katzen) an, der proximale Teil des Dickdarms stehe unter dem fördernden Einfluß des Vagus, der distale hingegen unter dem des Pelvicus. Da auch in unseren Versuchen das proximale Colon, d. h. der etwa 20—30 cm lange, an das Caecum anschließende breiführende Teil des Dickdarms, auf Vagusreizung anders reagiert als der distale, Kotballen enthaltende, sollen die Ergebnisse für beide Darmabschnitte gesondert dargestellt werden.

Als Versuchstiere dienten wiederum Meerschweinchen, doch wurden zu einigen Versuchen auch Kaninchen verwendet. Die Meerschweinchen erhielten zur Narkose 1,2 g/kg Urethan intramuskulär, die Kaninchen jedoch 0,75 g/kg intravenös, da die intramuskuläre Injektion des Narkoticums bei dieser Tierart eine zu lange anhaltende Darmlähmung verursacht. Die Länge der Darmstücke betrug etwa 10—12 cm. 1 cm Manometerausschlag entsprach 0,5 ccm Wasser. Nach Feststellung der Schwelle der beginnenden Peristaltik durch stufenweise Füllung des Darmstückes ging man — um eindeutige Resultate zu erhalten — mit dem Füllungsdruck so weit herunter, bis keine spontanen Bewegungen mehr auftraten. Die Vagusreizung erfolgte im Thorax.

Versuche am proximalen Colon des Meerschweinchens.

Wie W. Straub und H. Schild[4] in ihrer Arbeit zur Physiologie und Pharmakologie des Dickdarms (Objekt der Untersuchung war die mittlere, ballenführende Partie) mitgeteilt haben, ist dieser viel tonischer als der

[1] Straub, W., u. K. Stefánsson: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 450 (1937). — [2] Vgl. Trendelenburg, P.: Handb. d. norm. u. pathol. Physiol. Bd. 3 (1927); W. Catel: Normale u. pathol. Physiologie der Bewegungsvorgänge im gesamten Verdauungskanal. I. Teil. Leipzig 1936. — [3] Böhm, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **72**, 1 (1913). — [4] Straub, W., u. H. Schild: Ebenda **169**, 9 (1933).

Dünndarm, die einmal in Gang gekommene Peristaltik verläuft periodenlos, und die Dauer der einzelnen peristaltischen Welle ist länger als die am Dünndarm. Im Gegensatz zu diesem am distalen Colon gewonnenen Befund verhält sich nach unseren Versuchen das proximale Colon viel eher dünndarmähnlich, indem seine Tätigkeit schon bei 4 - 6 cm Wasser beginnt und die einzelne peristaltische Welle höher, deren Dauer jedoch meist kürzer ist (20—40 Sek.) als am distalen Teil (1—2 Min.) (vgl. Abb. 1).

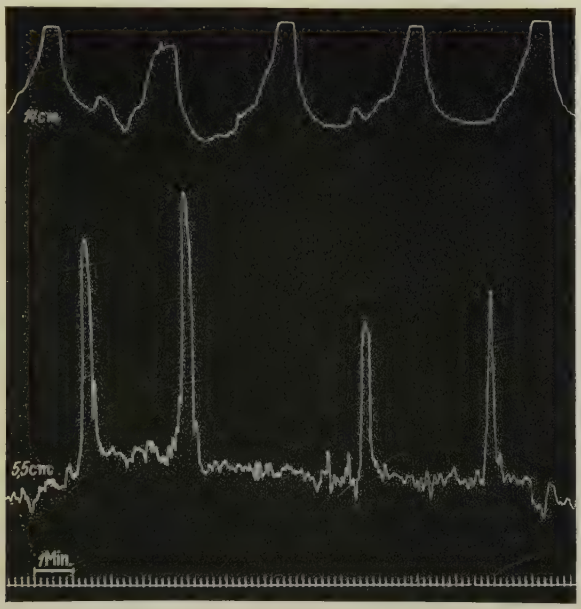


Abb. 1. Unten proximales, oben distales Colon des Meerschweinchens in der Anordnung nach Straub. Darmstücke desselben Tieres, gleichzeitig registriert. Die angegebenen cm-Werte bedeuten immer Füllungsdrucke.

Auch die elektrische Vagusreizung (Anordnung wie bei Straub und Stefánsson) hat am proximalen Colon etwa denselben Erfolg wie am Dünndarm, und die erhaltene Welle gleicht einer durch einen wirksamen Füllungszusatz erzeugten Kontraktion. Der Schwellenwert der elektrischen Vagusreizung scheint sogar niedriger zu liegen als beim Dünndarm, wo er etwa 2 Milliamp. beträgt, während wir oft, je nach dem Präparat, schon bei 0,1—0,2 Milliamp. Kontraktionen erhielten. Am sichersten wirkten jedoch 1—3 Milliamp. Da Überschwelligkeit des Reizes am Erfolg nichts ändert, so besteht offenbar auch für die vagale Innervation des proximalen Colons eine „Alles- oder Nichtsbeziehung" (Abb. 2). Die Reizdauer ist für den Reizerfolg ohne Bedeutung (vgl. Abb. 2b), insofern sie nicht kürzer ist als etwa 40 Sekunden. Kürzer dauernde Reize waren in vielen Fällen erfolglos (Abb. 3). In weit höherem Grade als am Dünndarm ist aber der Erfolg einer elektrischen Vagusreizung am proximalen Colon vom

Füllungsdruck abhängig (Abb. 4). Die geeignete Tonuslage ist von Tier zu Tier verschieden und beim frischen Präparat niedriger als beim erschöpften.

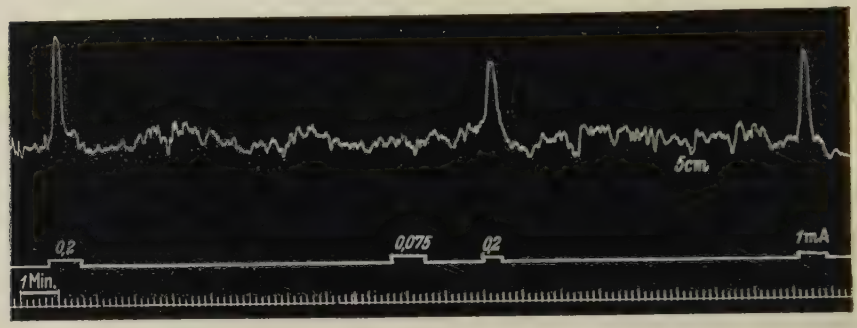


Abb. 2 a.

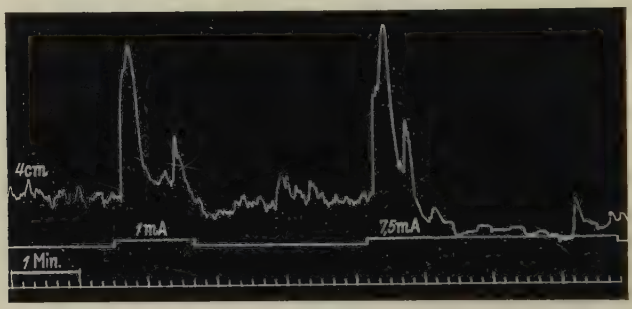


Abb. 2 b.

Abb. 2. Proximales Colon des Meerschweinchens. Elektrische Vagusreizung. mA = Milliampère a) 0,075 mA unwirksam; 0,2 mA wirken wie 1 mA. — b) Ein 70 Sek. langer Vagusreiz von 1 mA wirkt ebenso wie ein 215 Sek. langer von 7,5 mA.

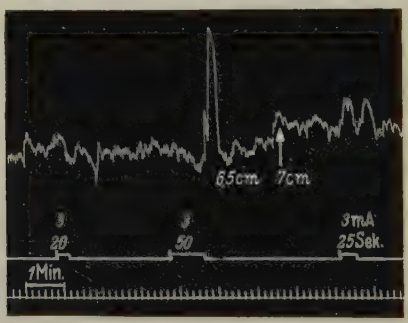


Abb. 3. Proximales Colon des Meerschweinchens. Elektrische Vagusreizung.

Zwischen dem brei- und dem ballenführenden Teil des Dickdarms befindet sich eine kurze von Böhm (a. a. O.) als „Pillenmaschine" bezeichnete Abteilung, in der die Formierung der charakteristischen Kotballen beginnt.

Hat man ein geeignetes Darmstück präpariert, so erhält man auf Vagusreizung ein Bild, das sich sowohl von demjenigen nach Reizung des eigent-

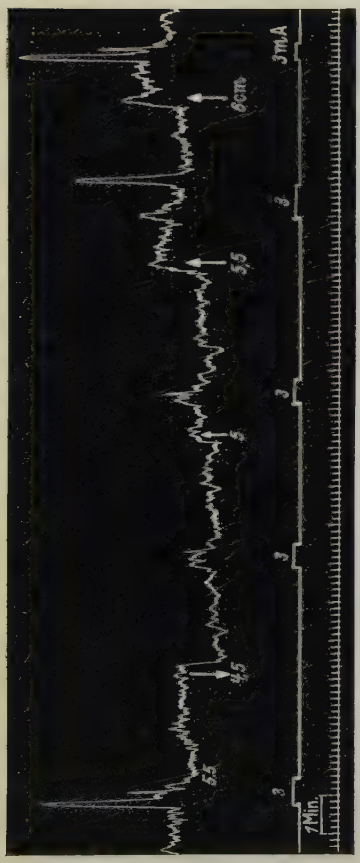


Abb. 4. Proximales Colon des Meerschweinchens. Abhängigkeit des Erfolges elektrischer Vagusreizung vom Füllungsdruck.

Abb. 5. Letzter Abschnitt des proximalen Colons des Meerschweinchens („Pillenmaschine"). Elektrische Vagusreizung.

lichen proximalen als auch des distalen Colons unterscheidet (Abb. 5). Die bis zu 10 Minuten andauernde Kontraktion hat einen stark tonischen

Charakter, was wohl mit der physiologischen Aufgabe dieses Darmabschnittes zusammenhängt.

Versuche am distalen Colon des Meerschweinchens.

Schon G. Böhm (a. a. O.) gibt an, daß der Erfolg der Vagusreizung am Dickdarm (Katze) unsicher sei: die Wirkung könne ausbleiben oder graduelle Verschiedenheiten aufweisen. Auch wir konnten — trotz sehr vieler Versuche — keine als charakteristisch aufzufassende und stets sicher reproduzierbare Wirkung erhalten, im Gegensatz zum proximalen Colon und Dünndarm, wo Versager kaum vorkamen, weshalb denn auch stets bei unseren

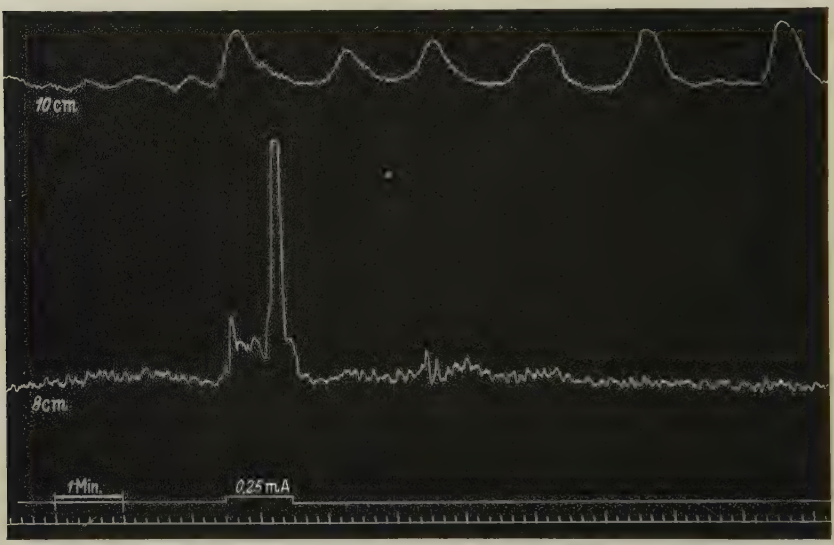


Abb. 6. Oben distales, unten proximales Colon desselben Meerschweinchens. Elektrische Vagusreizung. Beide Abschnitte gleichzeitig registriert.

Reizversuchen am distalen Colon die Tätigkeit eines der genannten Darmabschnitte zur Kontrolle mitregistriert wurde.

Am normal tätigen, d. h. bis zu seiner Reizschwelle gefüllten distalen Colon hat elektrische Vagusreizung größtenteils keinerlei erkennbare Wirkung zur Folge. Nach Entlastung des Darmes bis zum Aufhören der Bewegungen kann elektrische Vagusreizung gelegentlich Peristaltik auslösen, am sichersten, wenn der Darm erschöpft ist (Abb. 6). Am häufigsten sieht man (nach einer kurzen Hemmung) eine Verbesserung der Darmtätigkeit (regelmäßigere Peristaltik und höhere Amplituden), insbesondere, wenn bei nicht ganz geschwundener Peristaltik der Rhythmus gestört war (Abb. 7). Die Verbesserung ist meist vorübergehender Natur und hält dann bis zu 10 Minuten an.

Es ist in diesem Zusammenhang von Interesse, daß hier die elektrische Vagusreizung fast genau so wirkt wie das Prostigmin in den Versuchen von W. Straub und H. Schild (a. a. O.). Dort konnte gleichfalls am erschöpften Dickdarm ein vollständig verschwundener Rhythmus wieder erweckt und eine rhythmusgestörte Peristaltik wieder in normalen Zustand versetzt werden, während die Wirkung sonst, gleich wie bei uns die Vagusreizung, am Dickdarm, im Gegensatz zum Dünndarm, wenig charakteristisch war.

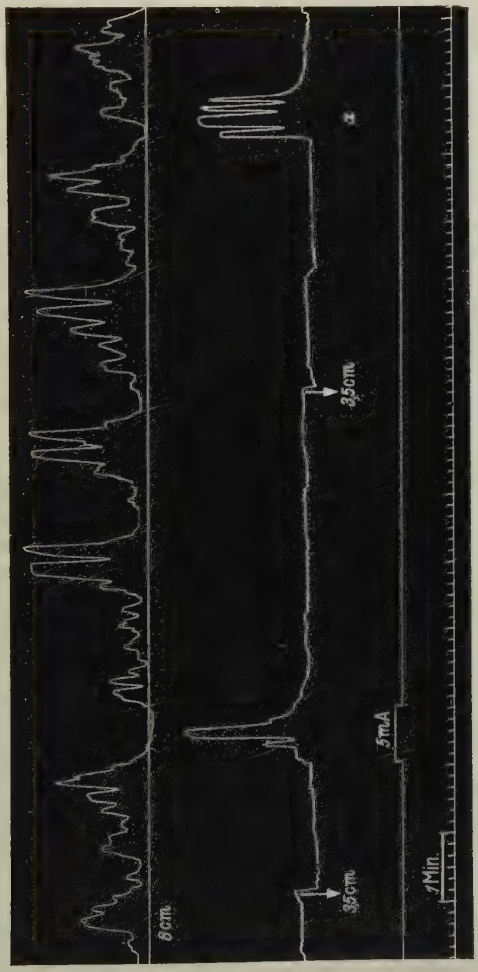


Abb. 7. Oben distales Colon, unten Dünndarm desselben Meerschweinchens. Elektrische Vagusreizung. Bei a spontane Peristaltik des Dünndarms.

Viel seltener als die allgemeine Verbesserung der Darmtätigkeit, und auch wieder vorwiegend am erschöpften Darm, kommt auf elektrische Vagusreizung eine sofort einsetzende, der Wirkung am Dünndarm bzw. am proximalen Colon entsprechende, reproduzierbare peristaltische Welle zu Gesicht (Abb. 8). Aber auch dann ist die Welle fast stets von einer kurzen

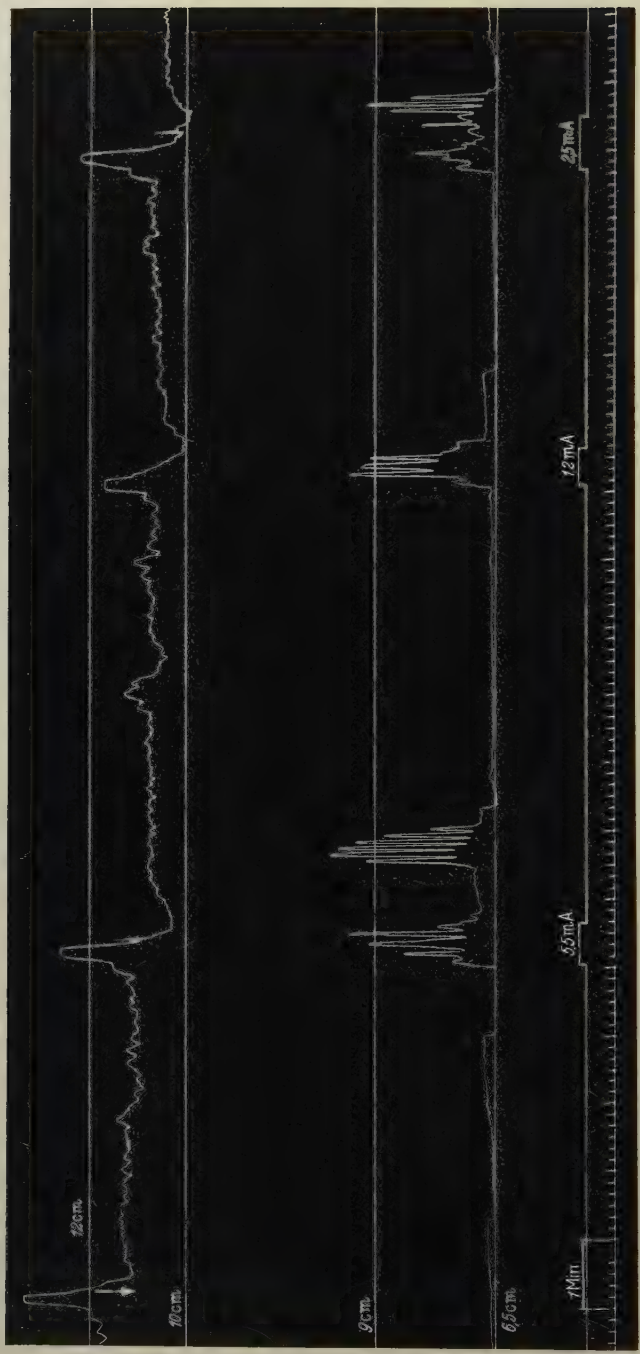


Abb. 8. Oben distales Colon, unten Dünndarm desselben Meerschweinchens. Elektrische Vagusreizung.

Tonussenkung gefolgt. Am frischen Darm ist die Kontraktion meist kleiner, die Tonussenkung jedoch größer (Abb. 9). Auch ein höherer Füllungsgrad läßt die Kontraktion schlechter, die Hemmung deutlicher hervortreten.

Da an die Möglichkeit gedacht werden konnte, die Hemmung werde durch Mitreaktion des Sympathicus verursacht, um so mehr als sich

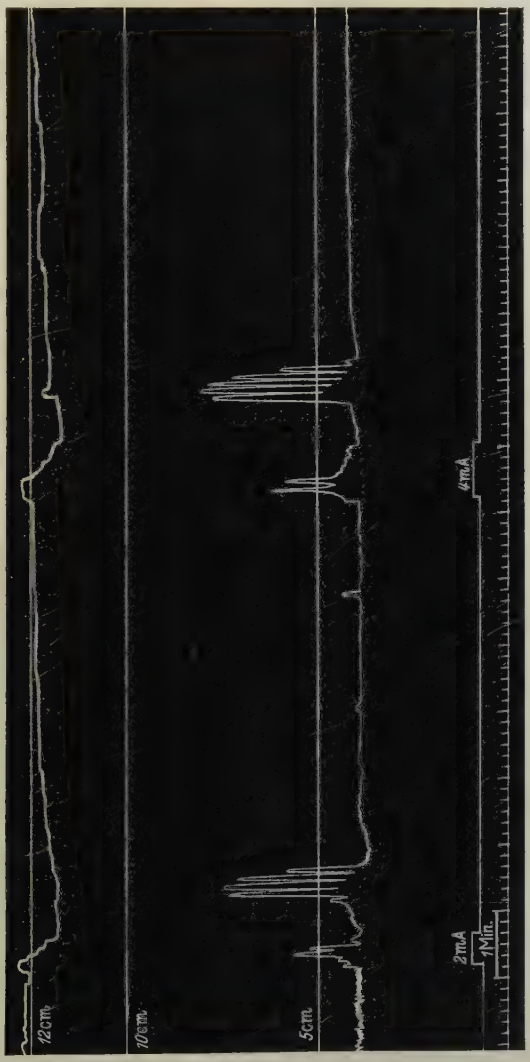


Abb. 9. Oben distales Colon, unten Dünndarm desselben Meerschweinchens. Elektrische Vagusreizung.

zwischen Vagus und Halssympathicus auch in Zwerchfellhöhe Anastomosen finden[5], stellten wir einige Versuche mit Ergotamin (= Gynergen) an,

[5] Suzuki, S.: Mitt. d. med. Ges. Tokyo **49**, 1659 (1935), zitiert nach den Ber. d. ges. Physiol. **102**, 107 (1937).

welches am isolierten Meerschweinchendarm in der Anordnung nach Trendelenburg auch die hemmende Adrenalinwirkung verhindert[6], und das in der Anordnung nach Straub, in der Menge von 20 γ/kg intravenös, die Peristaltik lähmt, ohne den Peristaltikreflex zu beeinflussen (W. Straub und H. Schild[4]). Wie unsere Versuche ergeben, war aber auch durch Ergotamin die Hemmung nicht zu beseitigen (Abb. 10).

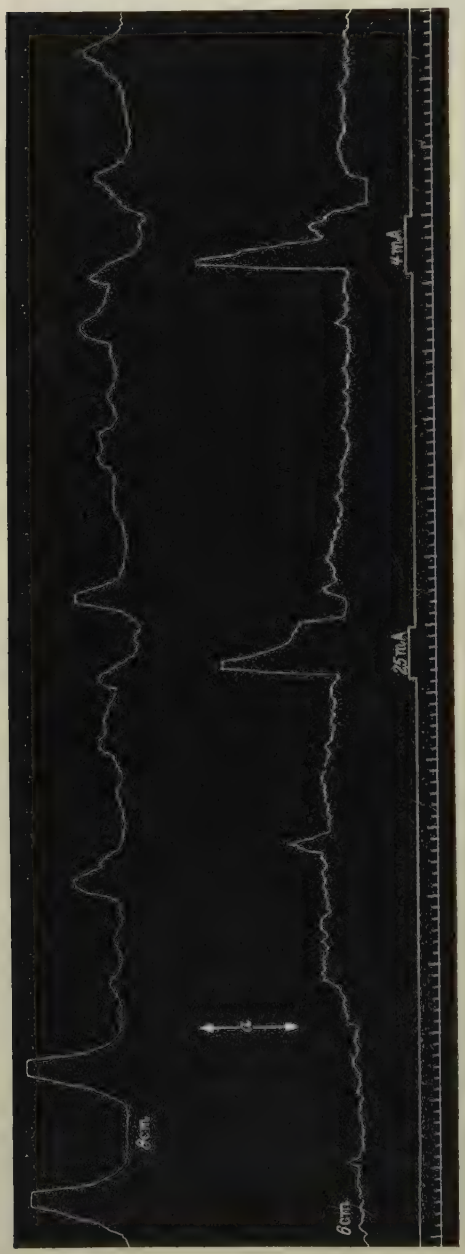


Abb. 10. Oben distales, unten proximales Colon. Elektrische Vagusreizung. Bei ø Injektion von 20 γ/kg Gynergen intravenös.

Welche Faktoren zur Erklärung der Verschiedenartigkeit des Erfolges elektrischer Vagusreizung sonst noch in Frage kommen, ließ sich nicht ermitteln. In der Annahme, daß der Dickdarm gegen Urethan empfindlicher sei als der Dünndarm, versuchten wir es als Narkosemittel ganz auszuschalten und verwendeten in einigen Versuchen statt dessen Äther in Kombination mit Curarin, ohne dabei einen wesentlichen Unterschied in den Ergebnissen feststellen zu können. Auch Herabsetzung der Urethanmenge durch Kombination mit Chloralose, welches Mittel für die Narkose der Katze recht geeignet ist[7], führte am Meerschweinchen zu keinem besseren Erfolg, so daß wir wieder zum Urethan zurückkehrten. Es sei jedoch darauf hingewiesen, daß die besten Ergebnisse immer dann erhalten wurden, wenn man zwischen der Injektion des Narkoticums und der Operation eine längere Zeit, etwa 5—6 Stunden, verstreichen ließ. Die Allgemeinnarkose bestand dann noch, der Darm aber schien besser zu funktionieren als in den frühzeitiger angesetzten Versuchen.

---

[6] Planelles, J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **105**, 38 (1925). — [7] Vgl. Straub, W., u. E. Triendl: Ebenda **185**, 1 (1937).

Versuche am Kaninchendarm.

Mehrere Versuche am Kaninchendarm in situ ergaben, daß es sich hier prinzipiell um dieselbe Reaktionsweise handelt wie beim Meerschweinchen. Der proximale Abschnitt des Dickdarms antwortete auf elektrische Vagusreizung gleich dem Dünndarm mit kräftigen Kontraktionen (Abb. 11).

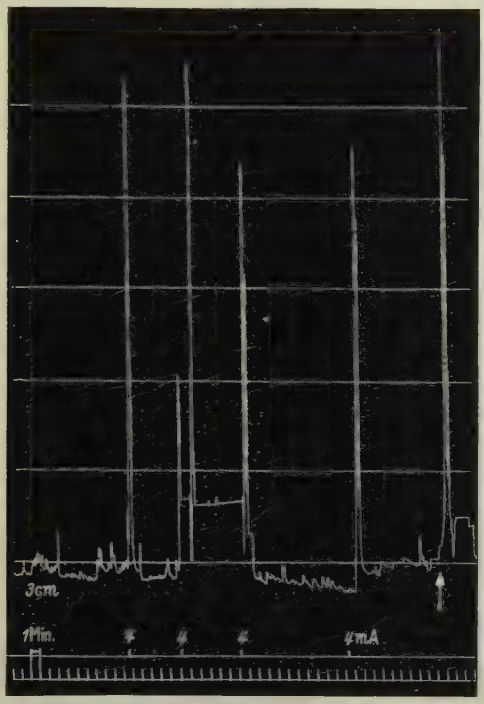


Abb. 11. Proximales Colon des Kaninchens in der Anordnung nach Straub. Elektrische Vagusreizung. Bei ▲ Peristaltik durch Erhöhung des Füllungsdruckes.

während der distale Abschnitt nur eine nach einigen Minuten einsetzende allgemeine, vorübergehende Verstärkung der Darmtätigkeit erkennen ließ, wofür in Abb. 12 ein besonders charakteristisches Beispiel gebracht wird.

Zusammenfassung.

1. Versuche am Dickdarm (Meerschweinchen und Kaninchen) in situ in der Anordnung nach Straub ergaben, daß das proximale Colon auf elektrische Vagusreizung sich im wesentlichen gleich dem Dünndarm verhält.

2. Am distalen Colon sind die Ergebnisse weniger sicher als am proximalen. Größtenteils erhielt man eine allgemeine, nach einer Latenzzeit von einigen Minuten einsetzende, vorübergehende Verstärkung der Darmtätigkeit. Infolge Erschöpfung des Darms gestörter Rhythmus wurde wieder normal, verschwundene Peristaltik konnte von neuem ausgelöst werden. Eine dünndarmähnliche Reaktion auf elektrische Vagusreizung kam nur selten zu Gesicht.

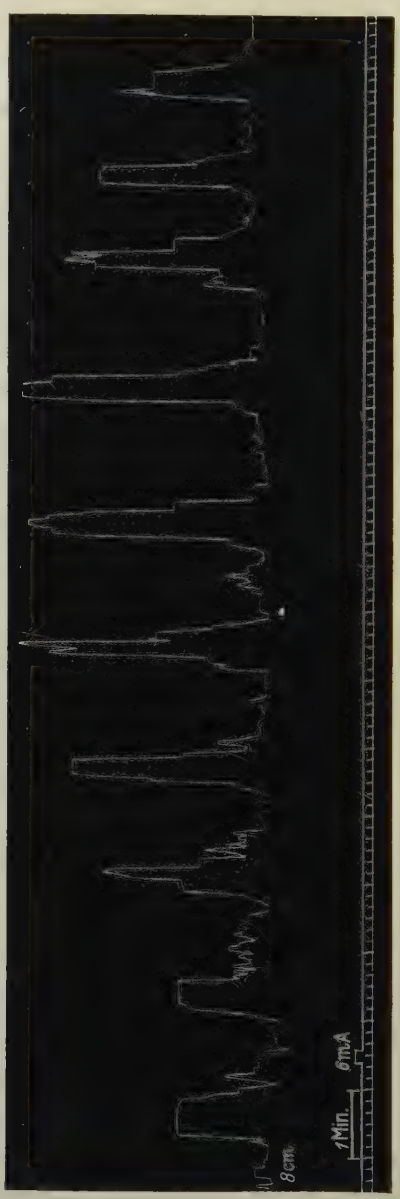


Abb. 12. Distales Colon des Kaninchens. Elektrische Vagusreizung.

3. Aus den Versuchen kann geschlossen werden, daß das proximale Colon, gleich dem Dünndarm, unter dem fördernden Einfluß des Vagus steht. Auch am distalen Colon ist ein Einfluß des Vagus unverkennbar, doch ist derselbe wegen der andersartigen Funktion dieses Darmabschnittes modifiziert und äußert sich infolge nicht näher feststellbarer Umstände auf elektrische Reizung nicht immer in gleicher Weise.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Unwirksamkeit von Acetylcholin und Histamin auf den Darm vom Darmlumen aus.

Von

Ed. Rentz (Riga).

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. August 1938.)

Am ausgeschnittenen Meerschweinchendünndarm in der Anordnung nach Trendelenburg beträgt die eben noch wirksame Azetylcholinkonzentration etwa $1 \cdot 10^9$. Am Präparat in situ nach Straub[1], also an dem in humoraler und nervöser Kontinuität im Körper belassenen Darmstück, bewirkt Azetylcholin subcutan oder intramuskulär, wie W. Straub und K. Stefánsson[2] gefunden haben, niemals Peristaltik, während intravenös mindestens 100 γ injiziert werden müssen. Durch intraarterielle Applikation konnte die wirksame Dosis auf 5 γ, durch Einspritzung in die Mesenterialarterie auf 0,2 γ gedrückt werden. Je näher man also an das Erfolgsorgan herankommt, um so deutlicher läßt sich die Gegenwirkung der Blutesterase hemmen. In Fortsetzung dieser Versuche schien es zunächst von Interesse festzustellen, wie das Azetylcholin bei direkter Applikation in das Darmlumen die Peristaltik beeinflußt.

Die Versuchsanordnung wurde zu diesem Zweck so abgeändert, daß man in das distale Ende des Dünndarmstücks eine dünne Kanüle einband, deren Spitze mit einer durchbohrten Metallkugel versehen war, um eine Verletzung der Darmwand zu verhüten. Durch diese Kanüle, deren oberer Teil außerhalb der Bauchwand zu liegen kam, konnte das Pharmakon in den Darm eingebracht werden. Wie üblich, wurde auch hier, um eindeutige Erfolge zu bekommen, die zunächst durch langsam ansteigende Füllung erhaltene natürliche Peristaltik unterdrückt, indem man mit der Füllung wieder so weit zurückging, bis das Präparat zur Ruhe kam. Bei den in dieser Mitteilung gegebenen Kurven entsprechen 2 cm Wasserhöhe 1 ccm Füllungszuwachs, d. h., eine peristaltische Welle von einer mit 2 cm Höhe registrierten Amplitude wirft 1 ccm Flüssigkeit aus. Die Meerschweinchen, im Gewicht von 600—800 g, erhielten 1,2 g Urethan pro kg intramuskulär.

Azetylcholin.

Es ergab sich, daß Azetylcholin (Azetylcholinchlorid-„Roche"), in den verschiedensten Konzentrationen direkt in das Darmlumen eingebracht, keinerlei Wirkung hervorruft (Abb. 1). Daß der Darm trotzdem hochsensibel war, ersieht man daraus, daß schon eine geringe Steigerung des

[1] Straub, W., u. P. Viaud: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **169**, 1 (1933). — Straub, W., u. K. Stefánsson: Ebenda **185**, 435 (1937).

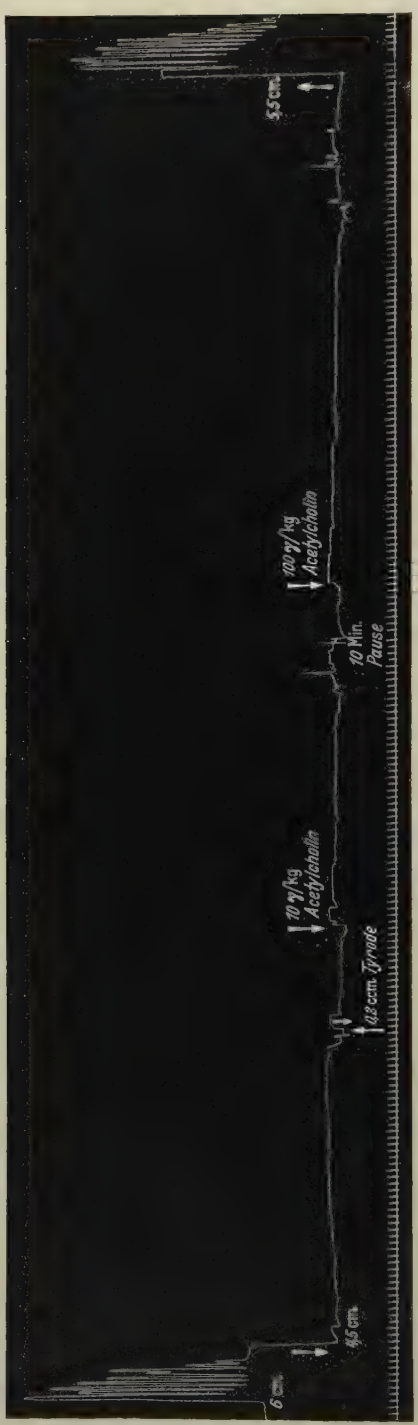


Abb. 1. Dünndarmpräparat des Meerschweinchens nach Straub. Gewicht des Tieres 715 g. Zeitmarkierung alle 10". Anfangs: Schwelle der spontanen Peristaltik = 6 cm Füllung. Dann Füllungsdruck auf den unterschwelligen Druck = 4,5 cm gesenkt. Am Schluß Druckerhöhung auf 5,5 cm.

Füllungsdruckes (0,5 ccm = 1 cm Wasserhöhe) ausreichte, um wieder Peristaltik auszulösen.

Wegen dieser Empfindlichkeit des Präparats darf das zu untersuchende Mittel nur sehr vorsichtig und mit einer kleinen Menge Tyrode (bis zu 0,2 ccm) in den Darm injiziert werden, da sonst die geringe Drucksteigerung an sich schon Darmbewegungen auslösen und eine Wirksamkeit des Mittels vortäuschen kann. Es wurde deshalb stets kurz vor der Injektion zur Kontrolle eine entsprechende Menge Tyrode allein in den Darm eingebracht bzw. der Füllungsdruck vorher um ein geringes gesenkt.

Nur nach ganz massiven Dosen (0,1 g/kg und mehr) ließ sich eine Wirkung des Azetylcholins erzwingen (Abb. 2). Da in der Darmschlinge etwa 4 ccm Flüssigkeit enthalten waren, handelte es sich um eine außerordentlich hohe Konzentration des Giftes (1 : 40). Trotzdem entspricht die Wirkung des Azetylcholins hier etwa derjenigen, wie sie Straub und Stefánsson (a. a. O.) bei intraarterieller Dauerinfusion in die art. mesenterica von etwa 10γ/Min./kg und weniger gesehen haben, d. h., es trat eine periodische Peristaltik auf. Wir haben es hier also noch nicht mit einer toxischen Konzentration des Giftes im Auerbachschen Plexus bzw. in der Muskelfaser zu tun, denn eine solche müßte Verschwinden der Peristaltik und

bedeutende Tonussteigerung zur Folge haben, wie sie in den Versuchen der genannten Autoren schon bei Infusion von etwa 20 γ/Min./kg eintrat. Von der großen in die Darmschlinge eingeführten Azetylcholinmenge konnte also nur ein verschwindender Bruchteil in die Darmwand eingedrungen sein.

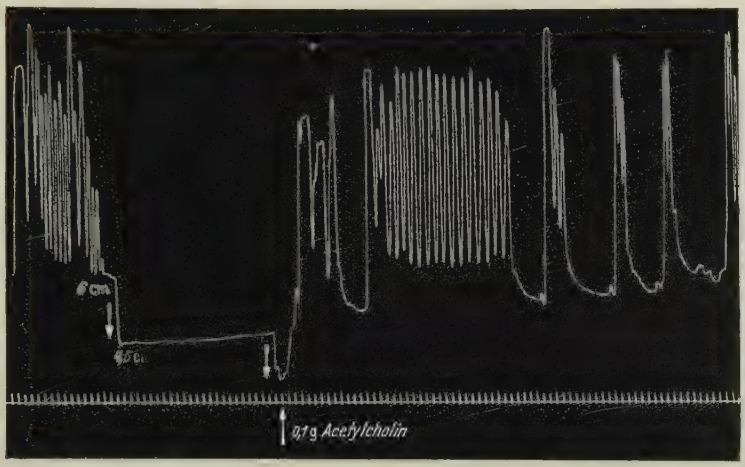


Abb. 2. Dünndarmpräparat des Meerschweinchens nach Straub. Gewicht des Tieres 720 g. Zeitmarkierung alle 10".

Durch Auswertungsversuche am Mäusedarm nach G. Kahlson[3] wurde untersucht, ob und wieviel Azetylcholin zu verschiedenen Zeiten noch im Darmlumen enthalten war. Es enthielt der Meerschweinchendarm während der ersten 5 Minuten nach Injektion von Azetylcholin im Lumen noch große Mengen desselben, die jedoch im Laufe der nächsten 20—25 Minuten auf 0 absanken (vgl. Abb. 3). Im angeführten Beispiel wurde 1 mg Azetylcholin in den 2,5 ccm Tyrode enthaltenden Darm eingebracht, so daß die alle 5 Minuten auf den Mäusedarm übertragenen 0,1 ccm Darminhalt je etwa 40 γ des Mittels enthalten mußten. Nach der Konzentrationswirkungskurve von Kahlson ergibt sich jedoch, daß — im Vergleich zur Wirkung des Standards (= 3 γ) — nach 5 Minuten wohl noch über 10 γ in 0,1 ccm enthalten waren, 5 Minuten später jedoch nur noch etwa

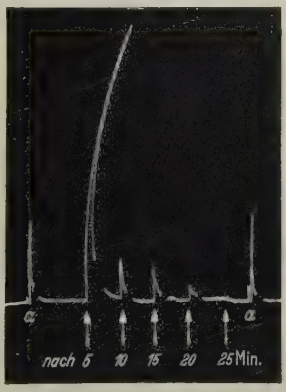


Abb. 3. Mäusedarm in der Anordnung nach Magnus. 70 ccm Tyrode. *a, a* Wirkung des Standards = 3 γ Azetylcholin. Dazwischen Wirkung von je 0,1 ccm des Inhalts vom Meerschweinchendarm in der Anordnung nach Straub 5, 10 usw. Minuten nach der Injektion von Azetylcholin in den Darm.

[3] Kahlson, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **175**, 189 (1934).

40% des Standards, d. h. 1,2 γ, und nach weiteren 10 Minuten nur mehr 8% (= 0,24 γ). 25 Minuten nach Beginn des Versuchs war kein Azetylcholin mehr im Darminhalt nachweisbar.

Abb. 4. Dünndarmpräparat des Meerschweinchens nach Straub. Gewicht des Tieres 800 g. Histamin im ruhenden Darm.

Versuche am Dickdarm führten zu denselben Ergebnissen wie am Dünndarm. Azetylcholin verschwindet demnach rasch aus dem Darm, immerhin nicht so rasch, daß es während der ersten 10 Minuten nicht hätte wirken können. Es muß also auf dem Wege zum Plexus gespalten worden sein.

Histamin.

Als zweiten Stoff prüften wir das Histamin (Histamindihydrochlorid = Imido-„Roche"), über dessen Resorbierbarkeit und Wirkung vom Darmlumen aus nicht viel bekannt ist[4].

In gleicher Weise wie Azetylcholin ist auch Histamin in hohen Dosen (bis zu 0,5 mg/kg) vom Darmlumen aus unwirksam, gleichviel, ob man es in den entlasteten und dadurch stillgelegten (Abb. 4) oder in den bei höherem Druck arbeitenden Darm (Abb. 5) einbringt.

Um den Darminhalt auf noch vorhandenes Histamin zu prüfen, konnte hier der isolierte Mäusedarm wegen seiner schwachen Reaktion auf dieses

[4] Vgl. Feldberg, W., u. E. Schilf: Histamin. Berlin, Jul. Springer, 1930.

Mittel nicht verwandt werden. Da aber der isolierte Meerschweinchendünndarm bekanntlich besonders empfindlich gegen Histamin ist, benutzten

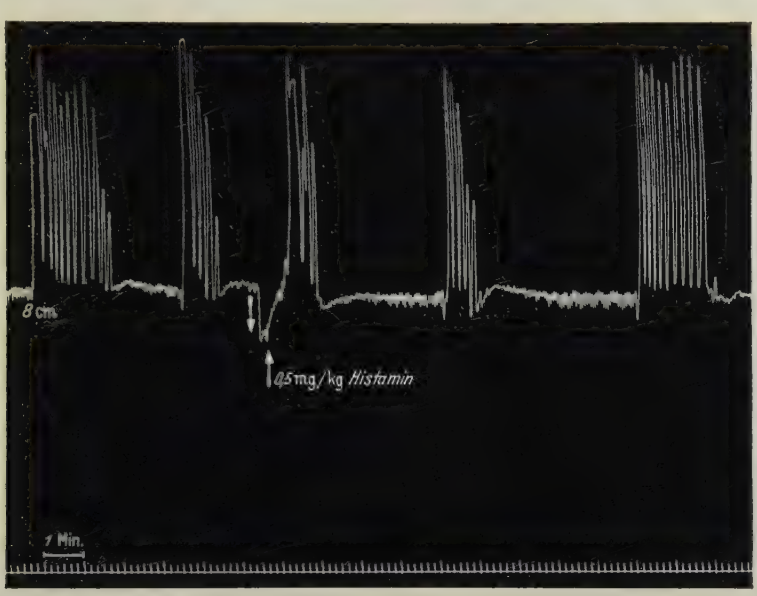


Abb. 5. Dünndarmpräparat vom Meerschweinchen nach Straub. Gewicht des Tieres 800 g. Histamin im arbeitenden Darm.

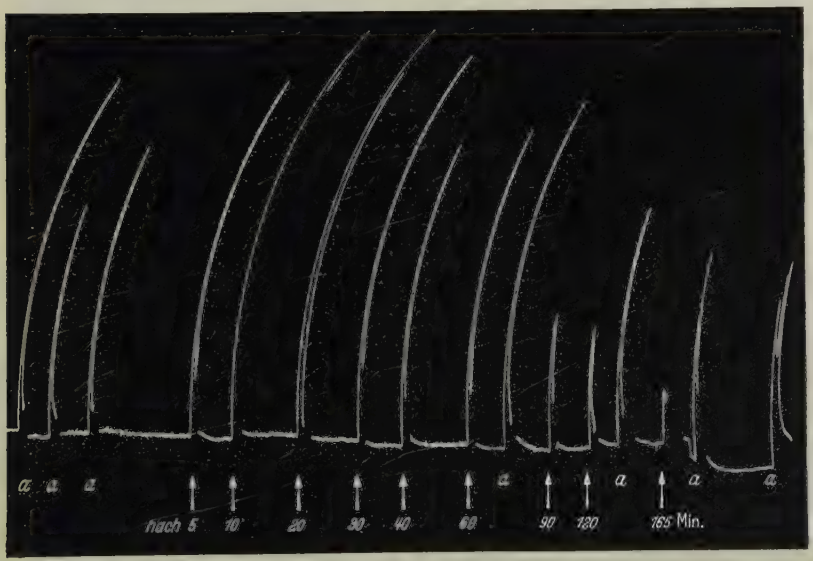


Abb. 6. Ausgeschnittener Meerschweinchendünndarm nach Magnus. 70 ccm Tyrode. *a*, *a* Wirkung von je 1 γ reinen Histamins. Dazwischen die Wirkung von je 0,1 ccm Inhalt vom Dünndarm desselben Meerschweinchens in der Anordnung nach Straub 5, 10 usw. Minuten nach der Histamininjektion.

wir ein dem nach Straub präparierten benachbartes und schon vor der Histamininjektion herausgeschnittenes Dünndarmstück desselben Meerschweinchens. Das Darmstück wurde in der üblichen Weise nach Magnus montiert.

Kontrollversuche mit reinem Histamin ergaben, daß schon 1 γ davon (in 70 ccm Tyrode) eine starke Reaktion des ausgeschnittenen Darmes hervorruft. Je 0,1 ccm Darminhalt (nach Injektion von 0,1 mg Histamin in die 2,5 ccm Flüssigkeit enthaltende Darmschlinge) bewirkten noch nach über 2 Stunden deutliche Kontraktion (Abb. 6), ungeachtet dessen, daß die Histaminkonzentration infolge Sekretionsanregung sich allmählich immer mehr verdünnte (etwa $2^1/_2$ Stunden nach Beginn des Versuchs enthielt die Darmschlinge etwa 5 ccm Flüssigkeit). Trotzdem sank der Histamingehalt in 0,1 ccm Darmflüssigkeit (anfangs = etwa 4 γ) im Laufe von 2 Stunden nur auf etwa 0,5 γ, also nicht mehr als um das 7—10fache ab.

Am ausgeschnittenen Dünndarm ist, wie der Versuch ergibt, Histamin in der Konzentration 1 : 70 Mill. (1 γ in 70 ccm) noch deutlich wirksam, während es vom Darmlumen aus selbst in einer über 3000mal stärkeren Konzentration (0,1 mg in 2,5 ccm — 1 : 25000) unwirksam ist. Daß das Histamin resorbiert wird, konnte man aus der profusen Speichelsekretion schließen. Die resorbierte Menge reicht jedoch offenbar zur Darmwirkung nicht aus, bzw. das Histamin wird beim Eintritt in die Darmwand zum größten Teil unwirksam, wobei allerdings an eine chemische Zersetzung dieser resistenten Substanz kaum zu denken ist.

Wirksamkeit von Pilocarpin und Morphin vom Darmlumen aus.

Im Gegensatz zum Azetylcholin und Histamin sind andere, nicht körpereigene Substanzen vom Darmlumen aus wirksam, wie hier am Beispiel des Pilocarpins und des Morphins gezeigt werden soll.

Pilocarpin.

Pilocarpin, in der Dosis von 50 γ/kg intravenös injiziert, macht am Meerschweinchendünndarm in der Anordnung nach Straub reguläre peristaltische Perioden, auf jede Dosis aber nur eine[5]. Um eine deutliche Wirkung vom Darmlumen aus zu erzielen, erwies sich in unseren Versuchen 1 mg, also das 20fache davon als die kleinste sichere Dosis. Es wurde gleichzeitig die Tätigkeit einer Dickdarm- und einer Dünndarmschlinge desselben Tieres registriert. Die Injektion geschah in das Dickdarmlumen. Die Wirkung auf den Dünndarm konnte demnach nur von dem im Dickdarm resorbierten und auf dem Blutwege dem Dünndarm zugeführten Pilocarpin herrühren (Abb. 7). Die Wirkung des Pilocarpins auf das Dick-

[5] Straub, W., u. K. Stefánsson: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 450 (1937).

darmstück, in das es injiziert worden war, setzte in den ersten paar Minuten ein, während die Wirkung auf den Dünndarm erst nach etwa 10 Minuten auftrat.

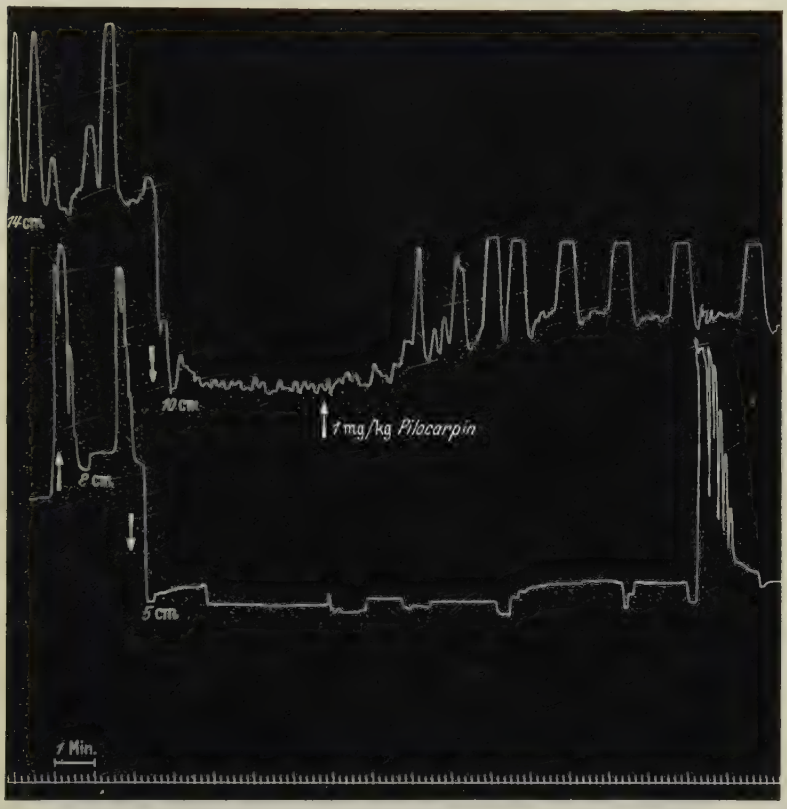


Abb. 7. Oben Dickdarm, unten Dünndarm des Meerschweinchens in der Anordnung nach Straub. Gewicht des Tieres 640 g.

Morphin.

Die unterste Grenze der am Dünn- und Dickdarm in der Anordnung nach Straub tonuswirksamen Morphindosen liegt bei 0,1 mg/kg Tier subcutan[6]. Vom Darmlumen aus wirkt, wie unsere Versuche ergaben, am sichersten 1 mg/kg (Abb. 8). Am Dickdarmstück, in das es injiziert wurde, zeigte sich der Effekt des Morphins nach etwa 2—3 Minuten, am Dünndarm erst nach etwa 10 Minuten. Auch 0,5 mg und gelegentlich selbst 0,2 mg/kg wirkten schon hemmend auf die Darmbewegungen, wenn auch weniger deutlich. Da Morphin nur den Tonus, nicht aber die Peristaltik lähmt, war durch geringen Füllungszuwachs die Darmmotilität leicht wiederherstellbar.

[6] Straub, W., u. M. Ozaki: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **173**, 374 (1933).

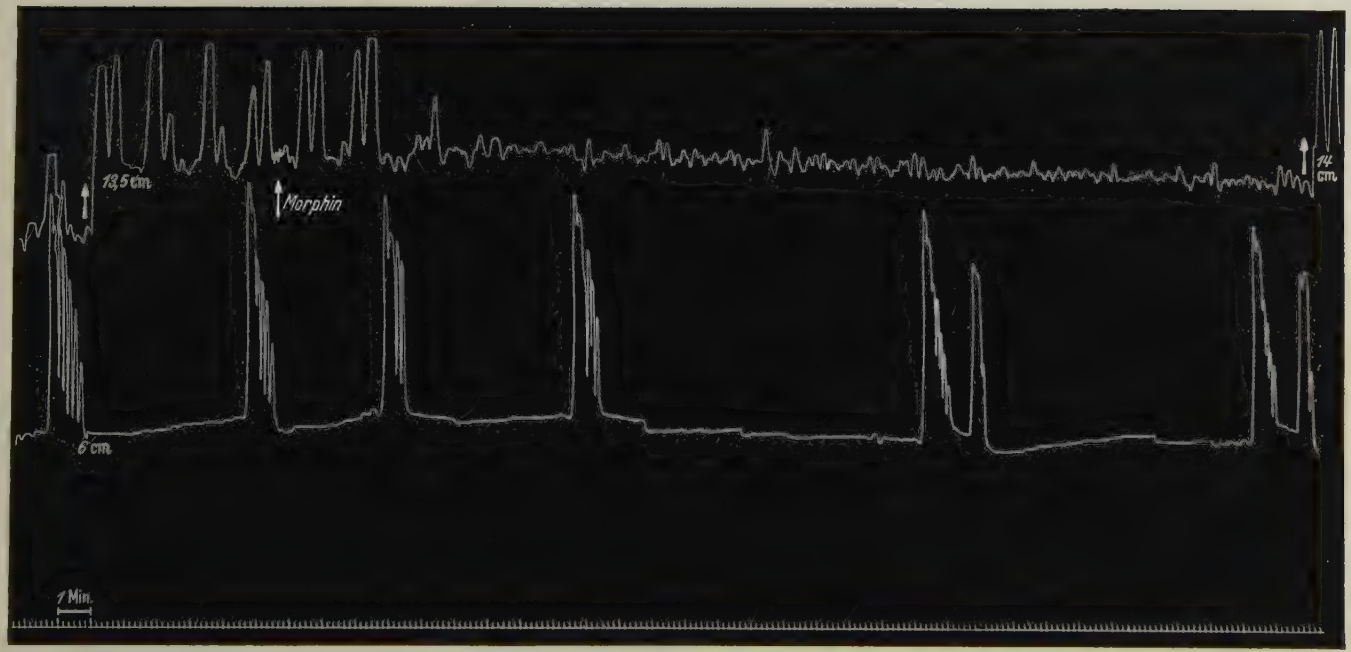


Abb. 8. Oben Dickdarm, unten Dünndarm des Meerschweinchens in der Anordnung nach Straub. Gewicht des Tieres 780 g. Bei ↑ Injektion von 1 mg/kg Morphin in den Darm.

Ergebnisse.

1. Der Meerschweinchendarm in situ in der Anordnung nach Straub wird vom Azetylcholin in den verschiedensten Konzentrationen vom Darmlumen aus nicht beeinflußt. Nur durch abnorm hohe Dosen (von 0,1 g/kg an) wird Peristaltik ausgelöst, d. h. die kritische Konzentration in der Umgebung des Auerbachschen Plexus erreicht. Auswertung am Mäusedarm ergab, daß das in den Meerschweinchendarm injizierte Azetylcholin daraus in der ersten halben Stunde vollkommen verschwindet.

2. Histamin wirkt ebenfalls nicht vom Darmlumen aus. Aus dem Darm entnommen und auf ein nach Magnus montiertes ausgeschnittenes Dünndarmstück desselben Tieres übertragen, wirkt Histamin jedoch noch sehr stark, selbst in Konzentrationen, die über 3000mal schwächer sind als die vom Darmlumen aus unwirksamen Mengen. In das abgebundene Darmstück injiziertes Histamin ist, im Gegensatz zum Azetylcholin, selbst nach $2^1/_2$ Stunden noch nicht völlig aus dem Darminhalt verschwunden.

3. Im Gegensatz zum Azetylcholin und Histamin sind Pilocarpin und Morphin (beide am besten in der Menge von 1 mg/kg) vom Darmlumen aus wirksam. In den Dickdarm in der Anordnung nach Straub injiziert, tritt die Wirkung hier in etwa 2—3 Minuten ein und äußert sich nach etwa 10 Minuten auch am Dünndarm, zu dem die Gifte nur nach Resorption auf dem Blutwege gelangen konnten.

Aus dem Pharmakologischen Institut (Direktor: Prof. S. Janssen) und der Frauenklinik (Direktor: Prof. F. Siegert) der Universität Freiburg i. Br.

Organveränderungen und Allgemeinreaktion bei intrauteriner Anwendung von oestrogenen Substanzen.

Von

Otto-Heinrich Arnold (Pharmakologisches Institut) **Paul Grumbrecht,** (Frauenklinik) **Arnold Loeser,** (Pharmakologisches Institut)

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. September 1938.)

I. Einleitung.

In den letzten Jahren ist eine Reihe von Arbeiten über das Verhalten des Organismus bei Dauerzufuhr von großen Mengen oestrogener Substanzen erschienen. Aus ihnen geht übereinstimmend hervor, daß Follikelhormon, in unphysiologischen Mengen parenteral zugeführt, in verschiedenen Organen Veränderungen verursacht, die für den Organismus nicht gleichgültig sind.

In früheren Untersuchungen[1] haben wir nachgewiesen, daß die charakteristischen Wirkungen von oestrogenen Substanzen auch dann auftreten, wenn diese in den Uterus selbst eingeführt werden. Sie wirken dabei unter Umgehung des Blutweges unmittelbar auf die Bauelemente des Uterus ein. Den Beweis hierfür liefert das Experiment:

Bringt man überlebendes Uterusgewebe in vitro mit oestrogenen Substanzen zusammen, so treten dieselben histologischen Veränderungen (Proliferation) auf, wie in vivo[2]. Wir konnten weiterhin feststellen, daß auch unter physiologischen Verhältnissen Follikelhormon die Uterusschleimhaut unmittelbar beeinflußt[3]. Es läßt sich nämlich zeigen, daß bei verschiedenen Tierarten Follikelhormon aus dem Follikel unmittelbar in den Uterus übertritt und dort die Wachstumsvorgänge in kürzester Zeit anregt. Diese Beobachtungen widerlegen die bisher allgemein vertretene Auffassung, daß oestrogene Substanzen lediglich auf dem Blutwege ihre typischen Wirkungen am Erfolgsorgan hervorrufen.

Wie aus den Angaben von Grumbrecht und Loeser hervorgeht, bestehen zwischen Dosis, Reaktionsgeschwindigkeit und Wirkungsdauer von intrauterin und parenteral zugeführten oestrogenen Substanzen quantitative Unterschiede. Intrauterin injizierte oestrogene Substanzen

[1] Grumbrecht u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 345 (1938); Klin. Wschr. **1938**, S. 1086; Arch. f. Gynäkol. **167**, 199, 373 (1938); Loeser: Vortrag auf der 14. Tagung der Dtsch. Pharmakol. Ges. Berlin 1938. — [2] Grumbrecht u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 356 (1938). — [3] Grumbrecht u. Loeser: Ebenda **189**, 376 (1938).

regen bereits in Mengen, die parenteral unwirksam sind, die Wachstumsvorgänge im Uterus an. Von diesen Beobachtungen ausgehend, haben wir in der vorliegenden Arbeit untersucht, ob dieselben Unterschiede hinsichtlich der Erzeugung schädlicher, über die Proliferation hinausgehender Vorgänge, auch für große Mengen von oestrogenen Substanzen gelten.

Zu diesem Zweck haben wir in den Uterus von Ratten einmalig 1000 bzw. 12000 bis 15000 i.B.E. (internationale Benzoateinheiten) Oestradiolmonobenzoat injiziert und die Wirkung auf das Erfolgsorgan und den Gesamtorganismus mit den Veränderungen verglichen, die nach parenteraler Dauerzufuhr großer Dosen oestrogener Stoffe eintreten.

II. Methodik.

Versuchstiere waren 125—295 g schwere weibliche, geschlechtsreife Ratten, die unter gleichen Temperatur- und Lichtbedingungen untergebracht waren. (Futter: Fleisch, Milch, Brot und Gemüse.) Zur intrauterinen Einführung der oestrogenen Substanz wurde der in Urethannarkose freigelegte Uterus dicht oberhalb der Cervix und an den tubaren Enden unterbunden. Anschließend injizierten wir mit einer feinen Injektionsnadel (Tuberkulinspritze) in das obere Ende eines jeden Uterushorns 0,01 bzw. 0,12—0,15 ccm = 500 bzw. 6000—7500 i.B.E. einer öligen Lösung von Oestradiolmonobenzoat. Nach Beendigung der Injektion wurden die Einstichstellen ligiert. Alle Eingriffe erfolgten unter sorgfältiger Schonung der Gefäße. Nach Abschluß der Versuche wurden die Tiere getötet und Uterus, Vagina, Brustdrüse, Leber, Milz, Knochenmark, Darm, Blase, Lymphknoten, Niere sowie die innersekretorischen Organe histologisch untersucht. Außerdem bestimmten wir täglich das Körpergewicht. Bei einem Teil der Ratten wurde in Abständen von mehreren Tagen zugleich das Blutbild laufend geprüft.

Die Versuche wurden in den Monaten Januar—Juli ausgeführt.

III. Allgemeinwirkungen nach intrauteriner Applikation von Oestradiolmonobenzoat.

Über den Einfluß der intrauterinen Einwirkung von großen Mengen Oestradiolmonobenzoat (12000 bis 15000 i.B.E.) auf das Gewicht der behandelten Tiere geben Tabelle 1 und Abb. 1 Aufschluß. Aus ihnen geht hervor, daß das Körpergewicht in den ersten Tagen nach der Injektion absinkt. Dieser Abfall ist nur vorübergehend, denn am 12. Tage nach Beginn der Behandlung ist das Anfangsgewicht wieder erreicht. Eine Gewichtszunahme tritt jedoch, abgesehen von kleinen Schwankungen, während der ganzen Versuchszeit nicht ein. Das Ausgangsgewicht wird nur um 5 % überschritten.

Der anfängliche Gewichtsverlust ist sicher nicht nur eine Folge des operativen Eingriffes. Mitbeteiligt an diesem Vorgang ist vermutlich auch die Schilddrüse, deren Tätigkeit, wie Grumbrecht und Loeser[4] zeigen konnten, nach intrauteriner Einführung von Follikelflüssigkeit oder oestrogenen Substanzen vorübergehend angeregt wird. Die Tatsache, daß

[4] Grumbrecht u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 377 (1938).

Tabelle 1. Das Verhalten des Körpergewichts von normalen Ratten nach intrauteriner Einführung von Oestradiolmonobenzoat.

Tier Nr.	Gewicht vor der Injektion in g	Körpergewicht in g vom 3. bis 29. Tage nach der Injektion																							
		Tage																							
		3.	4.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	19.	21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.
1300	154	151	150	155	154	158	151	158	155	160	165	165	172	174	165	165	160	174	160	170	165	175	170	175	175
1301	200	190	185	195	190	198	200	190	188	200	191	193	193	198	195	195	200	195	205	190	205	200	173	190	205
1302	150	150	148	150	153	159	158	169	155	156	159	160	162	165	165	164	165	170	150	165	165	170	165	165	170
1303	180	178	178	165	178	175	160	168	171	182	178	182	178	190	192	191	191	195	185	194	190	198	195	195	205
1304	200	190	190	198	209	214	225	218	205	222	228	235	228	230	235	224	225	238	220	235	228	230	220	235	230
1305	155	155	153	155	156	160	155	165	160	168	168	162	160	165	178	176	178	182	180	180	178	178	170	164	180
1306	180	180	175	166	172	172	172	180	175	185	180	180	185	185	195	191	188	200	190	192	185	208	188	188	210
1307	200	198	190	190	190	196	195	205	198	211	210	210	210	215	214	215	210	218	215	218	210	210	205	205	218
1308	184	178	178	169	178	178	185	175	170	180	189	182	170	180	178	180	172	175	175	175	170	180	170	170	175
1309	134	134	134	128	134	140	140	140	142	156	154	154	155	159	165	158	158	165	150	160	154	154	155	160	170
1310	155	158	150	146	150	152	158	158	155	161	159	158	158	160	156	145	145	165	165	161	155	168	150	160	165
1311	141	135	138	130	135	138	135	135	135	154	149	151	141	144	143	143	140	140	140	141	140	150	135	138	150
1312	245	248	250	248	240	250	235	250	240	255	243	255	255	255	250	260	245	235	245	250	250	268	260	260	260
1313	200	200	192	174	180	170	200	194	190	195	195	195	195	200	200	205	188	188	190	192	195	195	200	190	200
1314	295	298	280	268	278	285	280	295	285	295	290	295	300	295	298	305	280	290	290	291	290	302	290	300	310
1315	170	165	160	158	162	150	178	168	172	180	174	165	188	190	177	180	170	173	175	175	172	188	170	170	170
1316	195	185	185	180	170	178	190	178	185	191	199	182	203	199	200	212	190	200	205	205	200	218	195	205	205
1317	150	140	138	134	134	134	145	146	142	140	150	155	154	154	160	158	148	140	135	145	140	154	135	138	150
1317 a	170	160	155	154	150	159	168	175	168	180	179	175	180	180	181	182	165	165	165	165	162	175	160	165	175
1317 b	130	128	125	122	122	130	125	132	130	139	140	136	144	154	150	151	130	135	135	135	135	145	130	135	135
1322	130	130	130	124	122	125	135	130	132	132	138	135	138	144	144	145	136	141	135	140	140	145	140	141	145
1323	130	129	130	130	123	126	138	138	139	151	140	145	145	153	150	148	140	138	135	141	132	142	130	135	145
1324	120	125	120	118	125	130	130	132	135	134	130	135	138	141	135	141	142	148	145	141	146	153	150	153	141
1325	215	216	210	198	200	210	220	210	225	225	218	216	215	215	210	218	213	220	215	212	215	220	210	220	220
1327	228	220	200	205	210	192	230	240	230	240	235	230	230	230	228	228	220	230	210	225	229	238	235	240	240
1328	170	166	160	160	154	165	179	174	179	185	183	178	181	190	190	191	175	185	168	171	180	185	180	175	180
1329	178	160	160	158	165	155	165	160	175	175	168	169	171	175	170	181	175	185	170	170	170	175	175	178	180
1331	220	210	200	200	184	184	198	200	195	210	199	210	210	208	208	218	205	218	205	212	218	220	220	205	225
1332	165	156	155	155	158	160	168	165	165	160	160	160	160	168	160	168	155	162	155	155	162	168	165	170	165
1333	150	134	130	130	135	129	140	138	135	143	131	131	145	150	145	140	145	150	140	150	145	152	148	150	148
1334	175	164	160	160	168	169	178	180	170	175	160	155	156	170	164	170	170	170	158	182	170	178	165	165	168
1335	188	170	170	160	170	170	180	175	185	185	185	170	188	194	190	198	194	198	185	192	200	205	185	198	208
1336	125	123	118	123	132	135	145	145	132	145	138	130	144	144	140	148	148	148	140	145	150	155	145	148	148
1337	150	135	135	144	144	142	154	150	152	159	150	150	153	154	153	160	155	160	152	160	158	160	155	160	160

die Gewichtsabnahme nicht ausschließlich durch die Operation bedingt ist, wird durch die Beobachtung unterstützt, daß das Gewicht von gleichschweren Ratten, denen in Urethannarkose der Uterus vollständig entfernt worden war, zunächst in wesentlich geringerem Ausmaß absinkt, um dann schnell und stetig zuzunehmen.

Die Tiere zeigten vermehrte Freßlust und waren weniger lebhaft als unbehandelte Ratten. Verlust der Haare und Blutungen, wie sie gelegentlich nach subcutaner Injektion von großen Mengen oestrogener Substanzen auftreten[5], konnten wir in unseren Versuchen nicht feststellen.

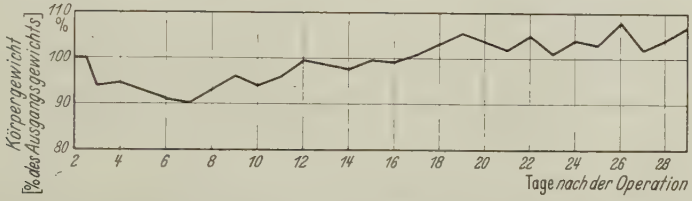


Abb. 1. Körpergewicht von Ratten in % des Ausgangswertes nach einmaliger intrauteriner Injektion von Oestradiolmonobenzoat (12000—15000 i. B. E.). Abszisse: Zeit in Tagen. Ordinate: Körpergewicht in % des Ausgangsgewichtes. Die Kurve entspricht den Mittelwerten von 39 Tieren.

IV. Organveränderungen nach intrauteriner Einwirkung von Oestradiolmonobenzoat.

Organveränderungen nach längerer Zufuhr von oestrogenen Substanzen auf parenteralem Wege sind bisher bei Ratten[6], Mäusen[7], Kaninchen[8], Meerschweinchen[9], Hunden[10] und Affen[11] beobachtet worden.

[5] Arnold, Hamperl, Holtz, Junkmann u. Marx: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 9 (1937). — [6] Selye, Collip u. Thomson: Nature **135**, 65 (1935); Proc. Soc. exper. Biol. and Med. **32**, 1377 (1935); Mc Euen, Selye, Collip: Lancet **1936**, S. 775; Zondek: Lancet **1936**, S. 776; J. exper. Med. **1936**, S. 789; Hohlweg u. Dohrn: Proc. of the Sec. Intern. Congr. for Sex Research (London) **1930**, S. 436; Clauberg u. Breipohl: Klin. Wschr. **1935**, S. 119; Grumbrecht: Arch. f. Gynäkol. **160**, 525 (1936); Kaufmann u. Steinkamm: Ebenda **162**, 553 (1936); Loeser: Unveröffentlichte Versuche; Migliavacca: Arch. f. Gynäkol. **162**, 595 (1936); Garufi: Arch. Ostetr. **1**, 189 (1937); Effkemann u. Herold: Zbl. f. Gynäkol. **1937**, Nr. 50; Szarka u. Rechnitz: Klin. Wschr. **1938**, S. 538. — [7] Goormaghtigh: C. r. Ass. Anat. Bordeaux, 25. März 1929; Cramer u. Horning: Lancet **247**, 1056 (1936); Danner: Klin. Wschr. **1938**, S. 658; Lacassagne: C. r. Soc. Biol. Paris **1932**, S. 630; Amer. J. of Cancer **27**, Nr. 2 (1936); Burrows u. Kennaway: Amer. J. of Cancer **20**, 48 (1934); Parkes: Lancet **1935**, S. 485; Clauberg: Zbl. f. Gynäkol. **1930**, S. 1154. — [8] Zondek: Lancet **1936**, S. 776; J. exper. Med. **1936**, S. 789; Mazer, Meranze u. Israel: J. Amer. Med. Assoc. **105**, 257 (1935); Pierson: Z. f. Krebsforschung **41**, 103 (1935); **46**, 109 (1937); **47**, 1 (1937); siehe auch Migliavacca: Arch. f. Gynäkol. **159**, 172 (1935); Lacassagne: Amer. J. of Cancer **27**, Nr. 2 (1936). — [9] Dessau: Arch. intern. Pharmacodyn. et de Thérap. **55**, 402 (1937); **58**, 350 (1938); Wolfe, Campbell, Burch: Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. **29**, 1263 (1932). — [10] Arnold, Hamperl, Holtz, Junkmann u. Marx: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 1 (1937); Purjesz u. Baló: Zitiert nach Szarka u. Rechnitz: Klin. Wschr. **1938**, S. 538. — [11] Overholser u. Allen: Proc. Soc. exper. Biol. and Med. **30**, 1322 (1933); Engle u. Smith: Anat. Rec. **61**, 471 (1935); Hisaw u. Lendrum: Endocrinology **20**, 228 (1936); Migliavacca: Arch. f. Gynäkol. **164**, 463 (1937).

Aus der Vielzahl der Untersuchungsergebnisse seien zunächst die Veränderungen der innersekretorischen Drüsen angeführt:

Die Mehrzahl der Untersucher fand bei weiblichen Tieren, insbesondere bei Ratten, eine Vergrößerung des Hypophysenvorderlappens. Diese wird einerseits auf Gefäßneubildungen und vermehrte Durchblutung, andererseits auf eine Vermehrung und Größenzunahme der Hauptzellen zurückgeführt. Daneben wurden vereinzelt adenomartige Wucherungen gefunden. Die Vergrößerung der Hypophyse soll von einer Hypertrophie der Nebennierenrinde begleitet sein, die wahrscheinlich sekundärer Natur ist. Bei der Maus führt die anhaltende Belastung des Organismus mit Follikelhormon häufig zu schweren degenerativen Veränderungen der Nebenniere, insbesondere der Nebennierenrinde. Während die Epithelkörperchen keine Besonderheiten aufweisen, ist die Schilddrüse im Sinne der Ruhedrüse verändert. Das Follikelepithel ist flach, die Follikelbläschen sind vollständig mit eosinophilem Kolloid gefüllt. Die Ovarien waren meist verkleinert, und zeigten eine geringere Eireifung und Corpus luteum-Bildung. Viele Eizellen weisen außerdem degenerative Prozesse auf. Alle diese Veränderungen wurden bei normalen und kastrierten Tieren bei verschiedenster Dosierung und verschieden langer Behandlungszeit beobachtet.

Neben den Veränderungen an anderen Organen, wie Leber, Milz und Knochenmark, auf die später näher eingegangen werden soll, sind insbesondere die Erscheinungen an den Erfolgsorganen des Follikelhormons hervorzuheben. An den Brustdrüsen lassen sich gelegentlich adenomartige Neubildungen nachweisen. Daneben finden sich histologische Bilder, wie wir sie von der Mastopathia cystica chronica her kennen. Der Uterus weist alle Übergänge von normaler Proliferation bis zur cystisch glandulären Hyperplasie der Schleimhaut auf. Darüber hinaus wird bei einem Teil der Tiere normales Zylinderepithel durch Plattenepithel ersetzt, das sich bis zur Mehrschichtigkeit und Verhornung ausdifferenzieren kann. Unter dem Einfluß der Wucherungsvorgänge kommt es bei einzelnen Tieren zu Nekrosen und entzündlichen Reaktionen in den oberflächlichen und tiefen Schichten der Uteruswand.

Für die Entstehung des Plattenepithels werden verschiedene Möglichkeiten angegeben. Einige Untersucher nehmen an, daß unreife, in den Uterushörnern vorkommende Zellen sich vergrößern, zu Plattenepithel umdifferenzieren und das Zylinderepithel bei genügend langer Hormoneinwirkung bis zur vollständigen Auskleidung des Cavum uteri verdrängen. Von anderer Seite wird die Ansicht vertreten, daß das normalerweise im Collum uteri vorhandene Plattenepithel in die Uterushörner hinaufwandert und auf diese Weise das Zylinderepithel ersetzt. Die letztere Möglichkeit wird besonders von den Autoren erwogen, die bei ihren Versuchen eine starke entzündliche Reaktion in der Uterusschleimhaut mit Desquamation des Oberflächenepithels beobachteten.

Es ist verständlich, daß überall da, wo atypische Differenzierungen des Epithels gesehen werden, sich die Frage erhebt, ob mit dieser Zellumformung auch atypische Wachstumsvorgänge verbunden sind. Diese Möglichkeit wird von fast allen Untersuchern auf Grund ihrer Versuchsergebnisse einstimmig abgelehnt. Nur Migliavacca[12] beobachtete bei seinen Tieren in einzelnen Fällen im Uterus infiltrierendes Wachstum von Plattenepithelsträngen in die Muskelschicht mit Zerstörung der Basalmembran. Auf Grund dieser Befunde glaubt Migliavacca auf einen Übergang von metaplastischen in neoplastische Vorgänge schließen zu können. Eine Bestätigung dieser Befunde ist bisher nicht erfolgt.

Trotz der einstimmigen Ablehnung derartiger Übergänge durch die obengenannten Autoren hat sich die Auffassung, daß oestrogene Stoffe cancerogen wirken können, nicht beseitigen lassen. Der Grund hierfür liegt einerseits in einer gewissen Ähnlichkeit des chemischen Aufbaus von Follikelhormon und verschiedenen krebserregenden Substanzen, andererseits darin, daß verschiedene krebserzeugende Kohlenwasserstoffe, in allerdings unphysiologischen Dosen, geringe oestrogene Eigenschaften aufweisen[13]. Abgesehen von diesen, in ihrer Bedeutung heute noch nicht klar erkennbaren chemischen Zusammenhängen, liegt der Gedanke nahe, zur weiteren Klärung dieser Frage die oben erwähnten Versuche unter neuen Gesichtspunkten aufzunehmen.

Es wurde bereits betont, daß Follikelhormon unter physiologischen Bedingungen unmittelbar in den Uterus übertritt und hier seine charakteristischen Wirkungen entfaltet[14]. Diese Beobachtung und die Tatsache, daß von den auf parenteralem Wege zugeführten oestrogenen Substanzen sicher nur ein Teil auf das Erfolgsorgan wirkt sowie die Erörterung der Möglichkeit einer Umformung dieser Stoffe in unwirksame Produkte, haben uns veranlaßt, oestrogene Substanzen in großen Mengen unmittelbar in den Uterus einzuführen.

1. Wirkung auf Uterus und Vagina.

Für die Versuche wurden insgesamt 60 Ratten verwendet, die in verschiedene Gruppen eingeteilt waren: Gruppe I (20 Ratten) erhielt einmalig intrauterin 1000 i.B.E., Gruppe II (5 Ratten) und Gruppe III (35 Ratten) einmalig intrauterin 12000 bis 15000 i.B.E. Oestradiolmonobenzoat. Die Versuchszeit betrug bei der ersten und zweiten Gruppe 14 Tage, bei der dritten Gruppe 28 Tage. Bei der Sektion erwiesen sich die Uterushörner bei sämtlichen Tieren als stark vergrößert. Verwachsungen der Uteri mit

[12] Migliavacca: Arch. f. Gynäkol. **162**, 595 (1936); siehe auch Dessau: Arch. intern. de Pharmacodyn. et de Thérap. **55**, 410 (1937). — [13] Cook u. Dodds: Nature **1933**, S. 131; Barry, Cook, Haslewood, Hewett, Hieger u. Kennaway: Proc. Roy. Soc. London **117**, 350 (1935). — [14] Grumbrecht u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 345 (1938).

den Nachbarorganen hatten sich nur in wenigen Fällen gebildet. Im Gegensatz zu den Uteri der Tiere, die 28 Tage nach der Operation getötet

Abb. 2. Uterus einer normalen geschlechtsreifen Ratte. Tiergewicht: 165 g. Vergrößerung 50fach. Färbung: Hämatoxylin-Eosin.

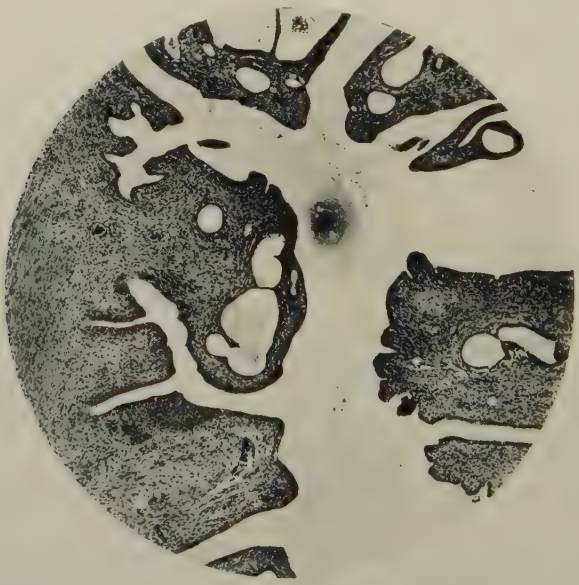


Abb. 3. Rattenuterus (Tier 1315) nach einmaliger intrauteriner Injektion von 12000 i. B. E. Oestradiolmonobenzoat. Tiergewicht: 170 g. Sektion: 28 Tage post injectionem. Cystisch glanduläre Hyperplasie. Typische Plattenepithelinsel im Bereich des Oberflächenepithels (im Bild links). Vergr. 50fach. Färbung: Hämatoxylin-Eosin.

worden waren, ließ sich in den Uteri der 14 Tage post operationem sezierten Ratten noch ein Teil der eingeführten öligen Injektionsflüssigkeit nachweisen.

Im histologischen Bild zeigte sich eine ausgeprägte Hypertrophie sämtlicher Gewebsschichten. Das Epithel bestand aus hohen Zellelementen. Die Drüsen waren vermehrt und stark erweitert. Die Wucherung betraf vor allem die Zellen des Stromas. Die Grenzmembran zwischen Oberflächenepithel und Schleimhautstroma war verdickt und überall gut erhalten. Die Scheide war bei der Mehrzahl der Tiere mit verhorntem Plattenepithel ausgekleidet. Während diese Erscheinungen bei sämtlichen Ratten als Folge der Verabreichung der oestrogenen Substanz in mehr oder weniger hohem Grade auftraten, fanden sich bei den Tieren, die 12000—15000 i. B. E. Oestradiolmonobenzoat erhalten hatten, außerdem noch weitere Veränderungen in den Uteri. An Stellen, die normalerweise mit Zylinderepithel ausgekleidet sind, beobachteten wir das Auftreten von Plattenepithelzellen (Abb. 2 und 3). Diese Erscheinungen sind, wie aus den nachstehenden Befunden hervorgeht, bei einzelnen Tieren schon 14 Tage nach der intrauterinen Einführung der oestrogenen Substanz zu erkennen.

Der Einfluß von Oestradiolmonobenzoat (12000—15000 i.B.E. intrauterin) auf den Uterus und die Vagina von normalen Ratten.

a) 14 Tage nach der Injektion (Gruppe II).

Uterus.

Ratte Nr. 1330. Im linken Horn Pyometra. Im Oberflächenepithel finden sich herdförmige Inseln von Plattenepithel. Diese Veränderungen sind vorwiegend im rechten Horn, das die geringsten entzündlichen Reaktionen zeigt, zu beobachten. Die Drüsen sind erweitert und mit hohem Epithel ausgekleidet, die Gefäße des Stromas erweitert, das Stroma selbst aufgelockert. Die Muskelschicht ist stark verdickt.

Ratte Nr. 1319. Geringe Proliferation der Schleimhaut.

Ratte Nr. 1320. Linkes Uterushorn stark gedehnt; flaches kubisches Oberflächenepithel. Die Schleimhaut des rechten Horns zeigt die typischen Zeichen der Proliferation. Die zahlreichen Drüsen sind teilweise cystisch erweitert. Entzündliche Reaktionen und metaplastische Veränderungen fehlen.

Ratte Nr. 1326. Schleimhaut mit knospenförmigen papillären Vorsprüngen. Typ des Epithels: Übergangsepithel mit herdförmiger Differenzierung in Plattenepithel.

Ratte Nr. 1321. Wie 1326.

Vagina.

Bei allen Tieren ist die Scheide mit verhorntem Plattenepithel ausgekleidet.

b) 28 Tage nach der Injektion (Gruppe III).

Uterus.

Ratte Nr. 1300. Sämtliche Gewebsschichten verdickt. Epithel hochzylindrisch. Deutliche Verbreiterung der Basalmembran des Oberflächenepithels. Erweiterung und Vermehrung der Drüsen. Erweiterung der kapillären Gefäße des Stromas. Sehr starke Anhäufung von eosinophilen Zellen in den tieferen Schichten des Stromas. Dieses ist an einigen Stellen zum Teil hyalin umgewandelt. Die gesamte Muskelschicht ist verdickt. Entzündliche Reaktionen sowie Metaplasien fehlen.

Vagina.

Die Scheide zeigt deutliche Mehrschichtung des Epithels ohne Verhornung; in den tieferen Schichten des Epithels zahlreiche Mitosen.
Ähnliche Erscheinungen wie Ratte Nr. 1300 zeigen die Tiere 1327—1329, 1323, 1305, 1308, 1312, 1313 und 1331—1337.

Uterus.

Ratte Nr. 1301. Das stark erweiterte Cavum uteri ist teilweise mit Detritus und Leukocyten angefüllt. Das Oberflächenepithel zeigt papilläre Sprossung. Die Zellen selbst bestehen zum Teil noch aus hochzylindrischen Zellelementen. Daneben findet sich Übergangsepithel, das an einigen Stellen bereits die Struktur von Plattenepithel angenommen hat. Vereinzelt riesenzellähnliche Gebilde mit großen chromatinreichen Kernen. Drüsenschicht schmal. Die Muskulatur ist stark verdickt und weist zahlreiche entzündliche Herde auf. Im übrigen wird auch hier wieder eine Verdickung und Verbreiterung der Basalmembran, sowie hyaline Umformung des Stromas beobachtet.

Vagina.

Wie 1300.

Uterus.

Ratte Nr. 1302. Wie 1300. Außerdem deutlich ausgebildete glanduläre Hyperplasie.

Vagina.

Wie 1300.

Uterus.

Ratte Nr. 1303. Wie 1300. Hervorzuheben ist die starke hyaline Quellung des Stromas.

Vagina.

Wie 1300.

Uterus.

Ratte Nr. 1304. Wie 1300.

Vagina.

Wie 1300. Starke Verdickung der Plattenepithelschicht, keine Verhornung.

Uterus.

Ratte Nr. 1306. Ähnliche Veränderungen wie bei Tier 1301. Faltenreiche Schleimhautoberfläche mit papillären Sprossen. Zum Unterschied von Tier 1301 finden sich hier bereits charakteristische Inseln von Plattenepithel. Entzündliche Reaktionen fehlen.

Vagina.

Mehrschichtiges Plattenepithel ohne Verhornung.

Uterus.

Ratte Nr. 1307. Wie 1300.

Vagina.

Mehrschichtiges verhorntes Plattenepithel.

Uterus.

Ratte Nr. 1309. Wie 1300. Zum Unterschied von Tier 1300 hat das Oberflächenepithel an vielen Stellen den Charakter von Übergangsepithel. Vereinzelte Drüsen sind mit Plattenepithel ausgekleidet, ihr Lumen ist mit Hornlamellen ausgefüllt.

Vagina.

Wie 1300.

Uterus.

Ratte Nr. 1310. Wie 1300.

Vagina.

Plattenepithel nicht verhornt.

Uterus.

Ratte Nr. 1311. Wie 1301.

Vagina.

Plattenepithel verhornt. Das Epithel der Cervix ist an vereinzelten Stellen ebenfalls verhornt.

Uterus.

Ratte Nr. 1314. Phlegmonöse Entzündung mit Abszeßbildung und Nekrosen in der Muskulatur.

Vagina.

Verhorntes Plattenepithel. In der Cervix dieselben Veränderungen wie im Corpus uteri.

Uterus.

Ratte Nr. 1315. Wie 1301. Drüsen stellenweise cystisch erweitert. In einzelnen Drüsen findet sich typisches Plattenepithel.

Vagina.

Epithel nicht verhornt. Die oberflächlichsten Zellen zeigen Ähnlichkeit mit Schleimzellen.

Uterus.

Ratte Nr. 1316. Wie 1300. Infolge stärkerer Erweiterung des Lumens ist die Schleimhautschicht abgeflacht.

Vagina.

Plattenepithel nicht verhornt.

Uterus.

Ratte Nr. 1317. Wie 1301. Beide Uterushörner sind fast vollständig mit Plattenepithel ausgekleidet. Die Basalmembran ist verdickt, aber an allen Stellen vollständig erhalten.

Vagina.

Plattenepithel verhornt. Das Epithel der Cervix uteri ist teilweise ebenfalls verhornt.

Uterus.

Ratte Nr. 1317a. Im rechten Horn starke Pyometra; linkes Horn frei von entzündlichen Veränderungen. Typ des Epithels: Übergangsepithel.

Vagina.

Plattenepithel verhornt.

Uterus.

Ratte Nr. 1317b. Wie 1300. Infolge starker Erweiterung des Lumens ist die Schleimhautschicht schmal.

Vagina.

Plattenepithel nicht verhornt.

Uterus.

Ratte Nr. 1322. Wie 1300.

Vagina.

Beginnende Verhornung des Plattenepithels.

Uterus.

Ratte Nr. 1324. Wie 1300.

Vagina.

Plattenepithel nicht verhornt.

Uterus.

Ratte Nr. 1325. Wie 1300. Im Gegensatz zu Tier 1300 findet sich hier vielfach Übergangsepithel. Außerdem sind in den tiefen Schichten des mehrschichtigen Oberflächenepithels bereits herdförmige Inseln von Plattenepithel zu erkennen. Die Drüsen sind zum Teil cystisch erweitert.

Vagina.

Plattenepithel verhornt.

Als wichtigste Feststellung ergibt sich aus den aufgeführten Versuchen, daß nach intrauteriner Zufuhr von großen Mengen Oestradiolmonobenzoat nicht nur die normalen Wachstumsvorgänge im Uterus angeregt werden, sondern darüber hinaus auch eine atypische Umformung des Oberflächen- und Drüsenepithels eintritt. Dabei sind alle Übergänge vom undifferenzierten Epithel bis zum ausgebildeten Plattenepithel zu beobachten. Diese Umdifferenzierung geht von einer basalen Zellschicht aus, die sich unter der Einwirkung der oestrogenen Substanz vergrößert und das Zylinderepithel verdrängt. Die unter dem Oberflächenepithel gelegene Grenzmembran ist in fast allen Fällen verdickt. Eine Zerstörung dieser Membran durch wuchernde Epithelzellen wurde nie festgestellt. Von besonderer Bedeutung ist die Tatsache, daß bei einmaliger intrauteriner Applikation von 12000—15000 i.B.E. Oestradiolmonobenzoat dieselben Veränderungen auftreten, die man auf subcutanem Wege[15] nach Verabreichung von täglich 1000 i.B.E. Oestradiolmonobenzoat innerhalb von 30 Tagen (= 30000 i.B.E.) erzeugen kann. Die in früheren Untersuchungen beobachteten Unterschiede zwischen der Wirkung von intrauterin und parenteral zugeführten oestrogenen Substanzen[16] gelten demnach auch für die Erzeugung pathologischer, über die Proliferation hinausgehender

[15] Grumbrecht: Arch. f. Gynäkol. **160**, 525 (1936). Loeser: Unveröffentlichte Versuche. Gegensätzliche Angaben siehe Migliavacca: l. c. — [16] Grumbrecht u. Loeser: Arch. f. Gynäkol., im Druck 1938; Klin. Wschr. **1938**, S. 1086.

Wachstumsvorgänge. Dabei ist es gleichgültig, ob die Tiere kastriert[17] sind oder nicht. Trotz der ausgeprägten metaplastischen Veränderungen und der teilweise stark ausgebildeten Zellatypie ließ sich in unseren Versuchen bei keinem Tier ein destruierendes Wachstum nachweisen.

2. Wirkung auf die Brustdrüse.

Im Gegensatz zum Uterus wird bei unserer Versuchsanordnung die Struktur der Brustdrüse bei intrauteriner Applikation von Oestradiolmonobenzoat nicht im Sinne der Metaplasie verändert. Insbesondere fehlen die eingangs von anderen Untersuchern beschriebenen Zeichen der cystischen Entartung.

3. Wirkung auf innersekretorische Organe.

Ebenso wie bei parenteraler Zufuhr von oestrogenen Substanzen treten auch bei intrauteriner Anwendung in einzelnen innersekretorischen Organen nachweisbare Veränderungen auf.

Die Hypophyse ist vergrößert (siehe Tabelle 3). Histologisch findet sich eine Hyperämie der Gesamtdrüse und eine geringe Vermehrung der Hauptzellen. Die morphologischen Veränderungen sind, wie die Bestimmung des Gehalts der Hypophyse an thyreotropem und gonodotropem Hormon ergibt, von Abweichungen im funktionellen Verhalten begleitet. Zur Wertbestimmung wurden die Hypophysen von 25 Ratten (Sektion: 28 Tage nach intrauteriner Injektion von 12000—15000 i.B.E. Oestradiolmonobenzoat) vereinigt, gewogen, in Aceton getrocknet und das erhaltene Trockenpulver ausgewertet. Die Auswertung selbst erfolgte nach den von Keller, Grumbrecht und Loeser[18] an anderer Stelle ausführlich beschriebenen Angaben. Das Ergebnis der Wertbestimmung zeigt Tabelle 2.

Tabelle 2. Wertbestimmung von thyreotropem und gonadotropem Hormon in Hypophysen von mit Oestradiolmonobenzoat behandelten normalen Ratten.

Art der Behandlung	Zahl der Tiere	Durchschnittsgewicht der Hypophyse in mg		Gehalt der Hypophyse an thyreotropem Hormon in MsE.		Gonadotropes Hormon		
		der frischen	der getrockneten	pro mg Trockenhypophyse	pro Gesamthypophyse	Dosis in mg Trockenhypophyse	Ovarieller Wirkungsgrad*	Oestrus
Unbehandelt	34	7,6	1,18	5—10	6—12	6·0,2—0,4	I+III	+
Oestradiolmonobenzoat (subcutan)	16	15,0	3,06	~1	~3			
Oestradiolmonobenzoat (intrauterin)	25	13,1	2,4	~1	~2	6·0,2—0,4	I+III	+

* Ovarieller Wirkungsgrad I = Follikelreifung. Ovarieller Wirkungsgrad II = Massenblutung in den Follikel (Blutpunkt). Ovarieller Wirkungsgrad III = Auftreten von Corpora lutea.

[17] Mc. Euen: Amer. J. of Cancer **27**, 91 (1936). — [18] Keller: Grumbrecht u. Loeser: Klin. Wschr. **1938**, S. 801.

Tabelle 3. Das Verhalten des Gewichtes innersekretorischer Organe nach intrauteriner Applikation von 12000—15000 i.B.E. Oestradiolmonobenzoat.

Tier Nr.	Tiergewicht in g zu Beginn des Versuchs	Tiergewicht in g am Ende des Versuchs	Organgewicht in mg Ovarium	Nebenniere	Schilddrüse	Hypophyse
		I. 14 Tage nach der Injektion.				
1319	120	123	42		17	8
1320	120	105	44		17,5	10,5
1321	135	138	40		13	9
1326	210	195	40		25	23,5
1330	200	178	32		45	12
		II. 28 Tage nach der Injektion.				
1300	154	175	72	52	18	
1301	200	205	81	96	31	
1302	150	170	71	57	20	
1303	180	205	66	91	24	
1304	200	230	100	90	32	
1305	155	180	54	65	30	
1306	180	210	73	64,5	23,5	
1307	200	218	75	70,5	24	
1308	184	175	52	73	21	
1309	134	170	50	54,5	23,5	
1310	155	165	61,5	59	22,5	
1311	141	150	52	55	20,5	Gesamtgewicht:
1312	245	260	38,5	107,5	26	328 mg
1313	200	200	46	69,5	27	
1314	295	310	55	64	25	
1315	170	170	35,5	54	19	
1316	195	205	72	85	29	
1317	150	150	36,5	56,5	19	
1317 a	170	175	29	68	29	
1317 b	130	135	46	69,5	18,5	
1322	130	145	59	75	20	
1323	130	145	69	71	20	
1324	120	141	119	68	28	
1325	215	220	62	91	29	
1327	228	240	67	66	32	
1328	180	180	41	40	31	11
1329	178	180	49	47	28	11
1331	220	225	31	81	29	23
1332	165	165	44	92	18	15
1333	150	148	46	45	26	—
1334	175	168	46	68	24	19
1335	188	208	30	55	20	—
1336	125	148	93	86	35	14
1337	150	160	69	65	29	18
		III. Unbehandelte Tiere (Kontrollen).				
1640	140		69	66	17	7,5
1641	165		61	47	26	7,5
1642	175		75	44	21	7,5
1643	165		63	48	19	8
1644	170		78	50	24	9
1645	170		55	50	20	7
1646	160		43	37	19	6,5
1647	190		70	67	19	10
1648	160		72	48	20	7,5
1649	155		78	51	23	7,5

Zu Vergleichszwecken sind dort gleichzeitig die Werte für unbehandelte Ratten und für Ratten, die 14 Tage täglich subcutan 1000 i. B. E. Oestradiolmonobenzoat erhalten hatten, aufgeführt. Wie aus der Tabelle hervorgeht, enthält die Hypophyse normaler, 150—180 g schwerer weiblicher Ratten etwa 6—12 MsE. (Meerschweincheneinheiten) thyreotropes Hormon[19]. Werden ungefähr gleich schwere Ratten einmalig intrauterin oder täglich subcutan mit großen Mengen Oestradiolmonobenzoat behandelt, dann sinkt der Gehalt an thyreotropem Hormon eindeutig ab. Der Gehalt an gonadotropem Hormon ist nicht herabgesetzt.

Die Schilddrüse war bei der Mehrzahl der Tiere normal (hohes Epithel, weitgehende Resorption des Kolloids). Einzelne Drüsen (Tier Nr. 1302, 1315, 1317, 1317a, 1317b, 1325 und 1319) zeigten das Bild des ruhenden Organs. Diese Ergebnisse sind deshalb bemerkenswert, weil erstens dem Mindergehalt der Hypophyse an thyreotropem Hormon bei den meisten Tieren keine gleichzeitige Minderleistung der Schilddrüse entspricht, wie man bei dem verminderten Gehalt der Hypophyse an thyreotropem Hormon erwarten sollte. Zweitens ist bekannt, daß Oestradiolmonobenzoat bei täglicher subcutaner Injektion von 1000 i. B. E. schon innerhalb von 14 Tagen eine sichere Ruhigstellung der Schilddrüse verursacht[20]. Daraus folgt, daß zwischen der intrauterinen und parenteralen Applikation von oestrogenen Substanzen auch hinsichtlich ihrer Fernwirkungen Unterschiede bestehen. Diese unterschiedliche Wirkung wird verständlich, wenn man bedenkt, daß oestrogene Substanzen die Schilddrüse in zweifacher Weise beeinflussen. Parenteral zugeführt wirken sie mittelbar auf dem Wege über die Hypophyse. Intrauterin verabreicht wirken sie ohne Vermittlung der Hypophyse unmittelbar auf die Schilddrüse[21]. Werden nun große Mengen intrauterin injiziert, so kann die unmittelbar vom Uterus aus verursachte Anregung der Schilddrüse durch den in den allgemeinen Kreislauf gelangenden Anteil der oestrogenen Substanz auf dem Wege über die Hypophyse dadurch überdeckt werden, daß die Hypophyse auf dem Blutwege ruhiggestellt wird.

Die Ovarialtätigkeit wird bei intrauteriner Applikation von Oestradiolmonobenzoat im Gegensatz zu der parenteralen Verabreichung nicht verändert. Das histologische Bild der Ovarien zeigt reifende Follikel in allen Entwicklungsstadien sowie zahlreiche Corpora lutea. In einzelnen Keimdrüsen konnten wir mehr als 20 Gelbkörper nachweisen. Dieser Befund ist deshalb hervorzuheben, weil bei parenteraler Zufuhr von oestrogenen Substanzen eine Hemmung der Eireifung eintritt[22].

Epithelkörperchen, Thymus, Nebennieren und Pankreas wiesen keine Besonderheiten auf.

---

[19] Grumbrecht u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 356 (1938). — [20] Grumbrecht u. Loeser: Ebenda **189**, 350 (1938). — [21] Grumbrecht u. Loeser: Ebenda **189**, 383 (1938); Arch. f. Gynäkol. **167**, 199 (1938); Loeser: Vortrag 14. Tagung der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft Berlin 1938. — [22] Siehe Madelung: Diss. Freiburg 1935, daselbst weitere Literatur.

4. Wirkung auf Leber, Milz und Knochenmark.

Bei der histologischen Untersuchung der Blutbildungsstätten ergaben sich Veränderungen, die für den nachher zu besprechenden Einfluß von oestrogenen Substanzen auf die morphologischen Bestandteile des Blutes von Bedeutung sind.

In der Leber ließen sich keine Blutbildungsherde nachweisen. Schädigungen im Sinne von degenerativen Verfettungen waren nicht festzustellen. Die Leberzellen waren mit Glykogen angefüllt. In den Kupferschen Sternzellen fand sich eine reichliche Ablagerung von Hämosiderin.

Die Milz war deutlich vergrößert. Die Eisenreaktion (Turnbullblau-Reaktion) ergab eine ungewöhnlich starke Ablagerung von Eisen in den Pulpazellen.

Das Mark in den Diaphysen der langen Röhrenknochen war im Gegensatz zu unbehandelten Tieren rot. An Stelle des sonst hier vorherrschenden Fettgewebes fand sich ein zelliges Mark, das sich vorwiegend aus Erythroblasten und myeloischen Elementen zusammensetzte. Die Megakaryocyten waren nicht vermindert und von normalem Aussehen.

5. Wirkung auf andere Organe.

Niere, Blase, Magendarmkanal und Lymphknoten waren unverändert. Blutungen unter den serösen Häuten, unter dem Endocard und im Herzmuskel, wie sie nach subcutaner Injektion von großen Mengen oestrogenen Substanzen bei Hunden beschrieben wurden[23], traten in unseren Versuchen nicht auf.

6. Wirkung auf die Blutbildung.

Der Einfluß von großen Mengen oestrogener Substanzen auf die Blutbildung ist zum ersten Male von Arnold, Holtz und Marx[24] untersucht worden. Nach ihren Angaben tritt bei Hunden, bei täglicher intramuskulärer Verabfolgung von 220—4400 γ = 2200—44000 i.B.E. Oestradiolmonobenzoat, nach einer Latenzzeit von etwa 2 Wochen ein charakteristisches Vergiftungsbild auf. Als erstes äußerlich sichtbares Krankheitszeichen beobachteten sie Blutungen aus kleinen Erosionen der Schleimhaut des Mundes, die sich meist zwischen dem 14. und 17. Versuchstag einstellten. Im weiteren Verlauf der Erkrankung kann es zu Bluterbrechen, Blutstühlen oder größeren Blutungen aus den Genitalorganen kommen. Außerdem wurden gelegentlich unter der Haut größere Hämatome beobachtet.

---

[23] Arnold, Hamperl, Holtz, Junkmann u. Marx: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 17 (1937). — [24] Arnold, Holtz u. Marx: Naturwissenschaften **1936**, S. 314; Arnold, Hamperl, Holtz, Junkmann u. Marx: l. c.; siehe auch Baló u. Purjesz: Klin. Wschr. **1937**, S. 1150; Bareuther u. Schabbel: Ebenda **1937**, S. 1677; siehe auch Minouchi u. Schwalm: Ebenda **1934**, S. 1565.

Die Untersuchung des Blutes ergab außer dem Zurückgehen bzw. dem Fehlen der Thrombocyten eine erhebliche Verminderung der Zahl der roten Blutkörperchen. Mit der Zahl der Erythrocyten nahm gleichsinnig der Hämoglobingehalt des Blutes ab. Im Gegensatz zu den Erythrocyten stieg die Zahl der Leukocyten beträchtlich an. Den Hauptanteil an der Leukocytose hatten reife neutrophile Leukocyten. Auf die anfängliche Leukocytose folgte bei genügend langer Lebensdauer der Versuchstiere fast regelmäßig eine Leukopenie. In diesem Stadium gingen die Tiere meist infolge sekundärer Infektionen zugrunde.

Die chemische Zusammensetzung des Blutes wurde durch große Mengen oestrogener Substanzen ebenfalls verändert. Der Gesamtstickstoff des Plasmas war während der schweren Blutungen vermindert. Die Reststickstoffwerte stiegen vor dem Tode der Tiere an. Der Calciumgehalt des Serums war erniedrigt (6—7 mg% gegen 10 mg% normal), der Cholesteringehalt erhöht[25].

Von besonderem Interesse ist das Verhalten der blutbildenden Organe. Den Erscheinungen im Blute gingen in fast allen Fällen Veränderungen im Knochenmark parallel. Gleichsinnige Veränderungen ließen sich auch in der Milz nachweisen. Dagegen zeigte die Leber keine Besonderheiten.

Die beschriebenen Befunde sind bisher nur bei Hunden festgestellt worden. Unterschiede zwischen männlichen und weiblichen Tieren traten dabei nicht auf.

Ausgehend von den vorstehenden Beobachtungen haben wir das Verhalten des Blutes normaler Ratten nach intrauteriner Injektion von großen Mengen Oestradiolmonobenzoat laufend geprüft.

Methodik. Das zu untersuchende Blut wurde aus der Schwanzvene der Tiere entnommen. Die Zählung der roten und weißen Blutkörperchen erfolgte in der üblichen Weise, die Zählung der Thrombocyten nach der Methode von Fonio. Die Reticulocyten wurden im Ausstrichpräparat mit Brillantkresylblau in der feuchten Kammer gefärbt und im Verhältnis zu den Leukocyten ausgezählt. Das weiße Differentialblutbild wurde nach dem in der Klinik üblichen Vorgehen ausgezählt.

Das Verhalten des Blutbildes von Ratten nach Einwirkung von großen Mengen Oestradiolmonobenzoat ist aus Tabelle 4 ersichtlich. Sie zeigt, daß die Zahl der roten Blutkörperchen in der ersten und zweiten Woche nach der intrauterinen Applikation der oestrogenen Substanz deutlich ab, die Zahl der weißen Blutkörperchen in geringem Ausmaß zunimmt. Die Zunahme der Leukocyten beruht fast ausschließlich auf einer Vermehrung der granulocytären Elemente, und zwar der segmentkernigen weißen Blutkörperchen. Die bei Ratten normalerweise hohe Lymphocytenzahl sinkt im Verhältnis zu den granulocytären Elementen ab. Unreife myeloische Zellen wurden nicht beobachtet. Nach etwa 20 Tagen nimmt die Zahl der Leukocyten ab, während sich die anfängliche

[25] Bareuther u. Schabbel: Klin. Wschr. **1937**, S. 1677.

Tabelle 4. Das Verhalten von Erythrocyten und Leukocyten bei normalen Ratten nach intrauteriner Einwirkung von Oestradiolmonobenzoat (12000—15000 i.B.E.).

Tier	Tage											
	12. V. 1938		17. V.	22. V.		27. V.		1. VI.		8. VI.		16. VI. 1938	
Nr.	E.	L.		E.	L.	E.	L.	E.	L.	E.	L.	E.	L.
1306	5,7	9 400	Operation	4,9	20 000	4,8	18 000	4,3	17 400	6,2	17 000	5.3	12 000
1307	5,6	9 400		4,5	24 000	3,7	20 000	4,4	14 400	5,6	14 000	5,5	14 000
1308	5,2	11 000		4,4	14 000	4.5	24 000	4,1	14 000	4,8	14 000	5,2	15 500
1309	6,4	12 000		4,2	16 000	3,9	21 000	3,3	11 000	5,7	16 000	5,3	12 000
1310	5,5	10 300		4,6	14 600	3,4	24 000	4,1	24 000	5,3	22 000	6,0	16 000
1311	5,5	10 000		4,5	12 000	4,1	14 000	3,9	10 000	5,5	21 000	5,3	11 000
1300	7,4	13 000		5,5	20 000	5,4	19 000	4,3	12 500	5,4	8 000	5,2	16 000
1301	5,0	9 700		4,0	22 400	3,9	24 000	4,1	30 000	6,2	25 000	4.9	23 000
1302	5,9	7 300		4,7	14 200	4,0	17 000	4,4	10 000	6,8	22 800	5,5	14 000
1303	5,2	8 700		5,4	8 000	3,6	16 000	3,9	15 000	6,4	9 400	5,1	16 000
1304	4,8	10 300		4,5	20 400	3,7	20 000	3,5	24 000	4.2	34 000	5,1	21 000
1305	5,1	10 200		3,5	10 200	3,1	21 000	3,1	33 000	5,0	14 000	5,6	21 000

Abkürzungen: E. = Erythrocyten in Millionen. L. = Leukocyten.

Abnahme der Zahl der roten Blutkörperchen wieder ausgleicht. Hervorzuheben ist bei diesen Versuchen das zeitliche Zusammenfallen der Veränderung des Blutbildes mit der Gewichtsabnahme der Tiere (vergleiche Tabelle 1).

Da nach den bisherigen Untersuchungen das Knochenmark des Hundes gegenüber großen Mengen von oestrogenen Substanzen sich besonders empfindlich erwiesen hat, injizierten wir in einem weiteren Versuch einem jungen, 14 kg schweren Hund nach Eröffnung der Bauchhöhle intrauterin 50000 i.B.E. Oestradiolmonobenzoat. Vor Beginn und während des Versuchs wurden dem Tiere in Abständen von mehreren Tagen Blut aus dem Ohr entnommen, Erythrocyten, Leukocyten, Thrombocyten und Reticulocyten gezählt und die Verteilung der weißen Blutkörperchen im Differentialbild bestimmt.

Wie Abb. 4 zeigt, lassen sich unter den angegebenen Bedingungen, allerdings in erheblich geringerem Ausmaß, ähnliche Störungen der Blutbildung nachweisen, wie sie von Arnold, Hamperl, Holtz, Junkmann und Marx[26] beschrieben worden sind. Die Zahl der roten Blutkörperchen und der Thrombocyten nimmt fast gleichzeitig ab. Zur Zeit des stärksten Abfalls der Erythrocyten waren vitalgranulierte rote Zellen nicht mehr zu beobachten. Im Gegensatz zu den oben erwähnten Untersuchungen war die Störung der Blutbildung nach einmaliger intrauteriner Injektion von Oestradiolmonobenzoat reversibel. Blutungen traten bei unserem Versuchstier nicht auf. Ebenso zeigte die Verteilung der weißen Blutkörperchen, deren Zahl während der ganzen Dauer der Untersuchung stark

[26] Arnold, Hamperl, Holtz, Junkmann u. Marx: Naunyn-Schmiedebergs Arch., l. c.

schwankte, keine Besonderheiten. In Übereinstimmung mit unseren Beobachtungen an Ratten fällt auch beim Hund die Störung des Blutbildes zeitlich mit einer Abnahme des Körpergewichts zusammen (vgl. Abb. 4).

Wie die vorstehenden Versuche zeigen, verursacht eine einmalige intrauterine Injektion von großen Mengen Oestradiolmonobenzoat beim Hund und bei der Ratte eine deutliche Veränderung des roten Blutbildes. Diese Veränderung erreicht 10—14 Tage nach der Injektion ihren Höhepunkt, und wird dann wieder ausgeglichen. Hervorzuheben ist dabei die Tatsache, daß die angewendeten Dosen im Vergleich zu den Mengen, die beim Hund zur Erzeugung ähnlicher Veränderungen subcutan verabreicht

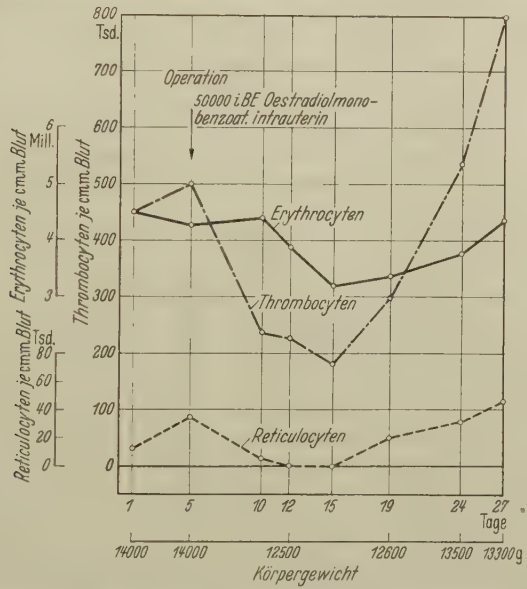


Abb. 4. Das Verhalten von Erythrocyten, Thrombocyten und Reticulocyten (Hund) nach einmaliger intrauteriner Injektion von 50000 i. B. E. Oestradiolmonobenzoat. Abszisse: Zeit in Tagen. Ordinate; Reticulocyten und Thrombocyten in Tausend, Erythrocyten in Millionen.

werden müssen, sehr klein sind. Wie aus den Angaben von Arnold, Hamperl, Holtz, Junkmann und Marx hervorgeht, wird das Blutbild nach einmaliger subcutaner Verabreichung von Mengen bis zu 220000 i.B.E. Oestradiolmonobenzoat beim Hund nicht verändert.

Wichtig erscheint uns weiterhin das Verhalten der Thrombocyten. Die Ab- bzw. Zunahme ihrer Zahl war sowohl in unseren als auch in den Versuchen der vorstehenden Autoren das empfindlichste Zeichen für die Störung der regenerativen Vorgänge und deren Ausgleich.

Über den Angriffspunkt der oestrogenen Substanzen in den verschiedenen Blutbildungsstätten läßt sich auf Grund der bisherigen Untersuchungen nichts Sicheres aussagen. Die Anhäufung von Hämosiderin

in den Reticuloendothelien von Milz und Leber weist jedoch auf einen erhöhten Zerfall von roten Blutkörperchen hin. Während dieser Zerfall bei unseren Tieren durch verstärkte Regeneration in der zweiten Hälfte des Versuchs ausgeglichen wurde, konnte die Anämie in den Versuchen von Arnold, Hamperl, Holtz, Junkmann und Marx trotz deutlicher Zeichen wiedereinsetzender Erythropoese im Knochenmark auch nach Aussetzen der Behandlung nicht aufgehalten werden.

Die mitgeteilten Beobachtungen lassen an Zusammenhänge mit Blutbildveränderungen denken, die zur Zeit gesteigerter Tätigkeit der Ovarien (Schwangerschaft, Menstruation) zu beobachten sind. Bekanntlich tritt während der Schwangerschaft fast immer eine Abnahme der Zahl der roten Blutkörperchen und des Hämoglobingehaltes auf. Mitunter liegen so schwere Störungen der Blutbildung vor, daß die Schwangerschaft unterbrochen werden muß. Die Erscheinungsformen dieser Schwangerschaftsanämien sind verschieden. In der Mehrzahl der Fälle handelt es sich um therapeutisch schwer beeinflußbare Anämien vom Typ der hypochromen Anämie[27], in schweren Fällen um aregeneratorische Anämien[28].

Die Einteilung der Schwangerschaftsanämien und deren Ätiologie in der gynäkologischen Literatur[29] ist infolge der verschiedenen Nomenklatur und Anwendung verschiedener Einteilungsprinzipien nicht einheitlich. Beurteilt man diese Anämien lediglich nach ihrer Ansprechbarkeit auf verschiedene therapeutische Maßnahmen, dann zeigen sich die Schwangerschaftsanämien gegenüber allen üblichen Behandlungsmethoden resistent. Die bisher vermuteten Ursachen der Schwangerschaftsanämien wie Eisenmangel, Achlorhydrie, Hydrämie, Vitaminmangel usw. sind wenig befriedigend. Es ist anzunehmen, daß bei der Schwangerschaftsanämie eine Störung der Knochenmarksfunktion vorliegt, die in direkter Abhängigkeit von der Gravidität steht und deren Ausmaß von konstitutionellen Faktoren[30] abhängig ist. Nach unseren Ergebnissen wird eine derartige Störung der Knochenmarksfunktion durch hormonale Einflüsse wahrscheinlich gemacht. Es liegt daher die Vermutung nahe, daß das vermehrte Auftreten von oestrogenen Substanzen während der Schwangerschaft außer vorübergehenden leichteren Störungen der Erythropoese bei konstitutionell nicht leistungsfähigem Knochenmark schwerste, aplastische Anämien verursachen kann.

Wie wir bereits ausführten, haben sich im Experiment die Thrombocyten als der empfindlichste Bestandteil der cellulären Elemente des Blutes während der Einwirkung von oestrogenen Substanzen erwiesen. Es wäre demnach von praktischer Bedeutung, bei Fällen von Schwangerschafts-

[27] Fullerton: Brit. Med. J. **1936**, S. 577. — [28] Daniachi: Monatsschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol. **100**, 328 (1935). — [29] Esch: Arch. f. Gynäkol. **129**, 788 (1924); Whitby: J. Obstetr. **39**, 267 (1932); Bethel: J. Amer. Med. Ass. **107**, 564 (1936); Esch: Dtsch. med. Wschr. **1932**, S. 652; Arch. f. Gynäkol. **144**, 393 (1931); Törner: Sv. Läkastidn. **1933**, S. 1185. — [30] Alder: Z. f. Geburtsh. u. Gynäkol. **87**, 518 (1924).

anämien leichteren Ausmaßes nicht nur auf die Anämie als solche zu achten, sondern durch Zählung der Thrombocyten und auch der vitalgranulierten roten Blutkörperchen den Beginn und den Grad der Knochenmarksstörungen zu erfassen.

V. Zusammenfassung.

Die toxischen Wirkungen von großen Mengen Oestradiolmonobenzoat nach intrauteriner Injektion bei normalen Ratten wurden untersucht. Dabei ergab sich:

1. Das Körpergewicht nimmt nach vorübergehendem Gewichtsabfall nicht weiter zu.

2. Der Uterus zeigt eine über die Anregung der normalen Wachstumsvorgänge hinausgehende atypische Umformung des Oberflächen- und Drüsenepithels mit allen Übergängen vom undifferenzierten Epithel bis zum ausgebildeten Plattenepithel. Trotz dieser ausgeprägten metaplastischen Veränderungen ließ sich bei keinem Tier ein destruierendes Wachstum nachweisen.

3. In der Brustdrüse finden sich im Gegensatz zum Uterus keine metaplastischen Veränderungen.

4. Das histologische Bild der Hypophyse zeigt eine geringe Vermehrung der Hauptzellen. Der Gehalt der Hypophyse an thyreotropem Hormon ist vermindert. Die Schilddrüse ist bei der Mehrzahl der Tiere normal. In den Ovarien finden sich neben reifen Follikeln zahlreiche Corpora lutea. Die übrigen innersekretorischen Organe weisen keine Besonderheiten auf.

5. Die Wirkungen auf Leber, Milz, Knochenmark und andere Organe wurden im einzelnen beschrieben.

6. Das Blutbild zeigt reversible Veränderungen der Erythrocyten- und Thrombocytenzahl. Auf die Beziehungen zwischen diesen Veränderungen und Störungen der Blutbildung während der Schwangerschaft wird hingewiesen.

Die Untersuchungen wurden mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft („Roche-Fonds“) und der Freiburger Wissenschaftlichen Gesellschaft ausgeführt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg.

Der Einfluß des Harnstoffs auf die Quellung und Permeabilität von Froschmuskulatur.

Von

Fritz Heim.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 4. September 1938.)

Die Permeabilität der Zellgrenzfläche, die den Ablauf der Lebensvorgänge innerhalb der Zelle gewährleistet, kann dieser Aufgabe nur dann genügen, wenn sie imstande ist, sich dem jeweiligen Funktionszustand der Zelle anzugleichen. Möglichkeiten derartiger Anpassungsfähigkeit sind im lebenden Organismus durch Änderungen des physikalisch-chemischen Zustandes der die Zellgrenzfläche aufbauenden Kolloide gegeben. Bedingungen, die unter Änderung des Kolloidzustandes zu einer Änderung der Permeabilität führen können, sind — neben anderen — der Vorgang der Quellung und Entquellung. Es liegt nahe anzunehmen, daß äußere Einflüsse, die auf Kolloide entquellend wirken, an der lebenden Zelle zur Permeabilitätsverminderung führen, Einflüsse dagegen, die die Wasseraufnahme der Kolloide begünstigen, eine Permeabilitätssteigerung hervorrufen. Wenn wir uns der Auffassung anschließen, daß die Zellgrenzschicht aus Lipoiden und Eiweißkörpern mosaikartig aufgebaut ist, so liefert vor allem die Eiweißkomponente ein gegenüber Wasser überaus reaktionsfähiges Substrat. Daneben besitzen auch Lipoide zum Teil die Eigenschaften hydrophiler Kolloide.

In einer früheren Arbeit von uns[1] wurde mitgeteilt, daß der Zusatz von Harnstoff zu Eiweißlösungen die Wasseraufnahme und Wasserbindung des Eiweiß erhöht. Diese Hydratationssteigerung ist nicht die Folge einer erhöhten Eiweißionisation, sondern als Peptisatorwirkung des Harnstoffs aufzufassen. Unter Berücksichtigung dieser Eigenschaft des Harnstoffs haben wir im folgenden seinen Einfluß auf die Quellung und Permeabilität untersucht. Denn wie bereits oben angedeutet, ist die Permeabilität der Zellgrenzflächen weitgehend vom jeweiligen Quellungszustand der die Zellgrenzschicht formierenden Kolloide abhängig. Es ist weiterhin von Interesse, die Änderungen zu kennen, die der Harnstoff auf den physikalisch-chemischen Zustand von Kolloiden auszuüben vermag, um Einblick zu gewinnen in Veränderungen kolloidchemischer Natur, die pathologisch hohe Harnstoffkonzentrationen, wie sie im Gefolge der Urämie auftreten, im Organismus hervorrufen können.

[1] Biochem. Z. **291**, 88 (1937).

Untersuchungen.

Als erstes wurde der Einfluß des Harnstoffs auf den Quellungsgrad von reinen Gelatinemembranen untersucht. Zu den Versuchen wurde Gelatine „Golddruck" von Schering-Kahlbaum verwendet. 4 qcm große Gelatinemembranen, deren Gewicht auf 0,2 mg genau bestimmt wurde, wurden für 24 Stunden bei Zimmertemperatur in 6 ccm einer Essigsäure-Acetatpufferlösung vom $p_H = 4{,}75$ gelegt, der Harnstoff in steigenden Konzentrationen zugesetzt wurde. Es wurde die Acetatpufferlösung vom $p_H = 4{,}75$ deshalb gewählt, weil diese Wasserstoffionenkonzentration dem isoelektrischen Punkt der Gelatine entspricht, und die gepufferte Lösung eventuelle Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration, die durch Zusatz größerer Mengen Harnstoff entstehen könnten, verhindert. In Tabelle 1 ist ein derartiger Versuch mitgeteilt. Die zweite Spalte der

Tabelle 1.

	Absolute Gewichtszunahme in % Trockengewicht	Relative Gewichtszunahme bezogen auf Kontrollversuch = 100
Essigsäure-Acetatpuffer ($p_H = 4{,}75$)	1036	100
„ + 0,1 % Harnstoff ..	1056	102
„ + 0,25% „ ..	1102	106,3
„ + 0,5 % „ ..	1091	105,3
„ + 1,0 % „ ..	1176	113,5
„ + 2,0 % „ ..	1260	121,6
„ + 4,0 % „ ..	1476	142,4
„ + 6,0 % „ ..	1711	165,1
„ + 8,0 % „ ..	gelöst	gelöst

Tabelle gibt die absolute Gewichtszunahme in Prozent des Trockengewichts an. In Spalte 3 sind die Gewichtszunahmen angeführt, bezogen auf die Gewichtszunahme der Gelatinemembran in der reinen Pufferlösung. Der Versuch zeigt, daß mit steigenden Harnstoffkonzentrationen das Quellungsvermögen der Gelatinemembranen zunimmt. Es sei noch erwähnt, daß, wenn man statt der Pufferlösung den Harnstoff in steigenden Konzentrationen reinem Wasser zusetzt, die Versuchsergebnisse die gleichen sind, wie sie in Tabelle 1 mitgeteilt wurden. Die Dissoziation des Harnstoffs in wässeriger Lösung ist eben so minimal, daß sie auf die Ionisation der Gelatine und somit auf deren Quellungsvermögen ohne Einfluß ist.

Weiterhin wurde der Einfluß des Harnstoffs auf die Quellbarkeit von quergestreifter Froschmuskulatur untersucht. Es wurde zu diesem Zweck die Muskulatur nach Entfernen des Perimysiums mechanisch zerkleinert und etwa gleiche Mengen des Muskelbreies in 8 ccm 0,7 %iger NaCl-Lösung suspendiert. Um auch minimale Gewichtsveränderungen bei dieser Versuchsanordnung erfassen zu können, wurde folgendermaßen verfahren: Es wurde zu Beginn des Versuchs der in Zentrifugengläsern befindliche

in 0,7 %iger NaCl-Lösung suspendierte Muskelbrei 20 Minuten zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit mittels einer an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossenen Glaskapillare genauestens abgesaugt. Daraufhin wurde das Gewicht des in den Zentrifugengläsern sedimentierten Muskelbreis auf der analytischen Waage bestimmt. Nun wurden neuerdings in jedes Zentrifugenglas 8 ccm 0,7 %iger NaCl-Lösung gegeben, in denen mit Ausnahme des Kontrollversuchs Harnstoff in steigenden Konzentrationen enthalten war. Nach 24stündiger Versuchsdauer wurde wieder zentrifugiert, abgesaugt und erneut das Gewicht des Muskelbreis bestimmt. Die Ergebnisse eines derartigen Versuchs sind in Tabelle 2 niedergelegt. Die durch Harn-

Tabelle 2.

	Gewichtsveränderung in % des Anfangsgewichts	Gewichtsveränderung bezogen auf Kontrollversuch = 100
0,7 %ige NaCl-Lösung	— 3,866	100
„ „ + 0,1 % Harnstoff....	— 0,061	104,0
„ „ + 0,25 % „	+ 1,676	105,8
„ „ + 0,5 % „	— 0,402	103,6
„ „ + 1,0 % „	— 1,390	102,5
„ „ + 2,0 % „	— 2,603	101,3

stoffzusätze verursachte Erhöhung der Quellfähigkeit der Muskulatur ist in allen Versuchen unverkennbar gewesen. Bemerkenswert ist, daß niedere Harnstoffkonzentrationen den Quellungsgrad der quergestreiften Muskelfasern in stärkerem Maße begünstigen als die Harnstoffzusätze von 1 bzw. 2 %. Dieser Befund ist sehr wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß größere Harnstoffkonzentrationen bereits Eiweiß in geringem Maße in Lösung überzuführen vermögen und diese in der Suspensionsflüssigkeit enthaltenen Eiweißmengen bei der Wägung unberücksichtigt bleiben müssen.

Die Quellungsversuche haben gezeigt, daß der bereits in einer früheren Arbeit von uns[1] nachgewiesene hydratationssteigernde Einfluß des Harnstoffs in gleicher Weise am Kolloidgel wirksam ist. Es hat sich weiter ergeben, daß an der Muskelfaser sich der Einfluß des Harnstoffs in gleicher Weise geltend macht wie am reinen Gelatinegel.

Um zu entscheiden, ob der Einfluß des Harnstoffs auf das Wasserbindungsvermögen von quergestreifter Muskulatur zu einer gleichsinnigen Änderung ihrer Permeabilität führt, wurde in folgendem die Wasserpermeabilität von quergestreifter Muskulatur in Gegenwart von Harnstoff untersucht. Während sich bei den Quellungsversuchen nur der im Verlauf von 24 Stunden erreichte endgültige Zustand der Quellung quantitativ erfassen ließ, bietet die im folgenden beschriebene Versuchsanordnung die Möglichkeit, die Wasserpermeabilität von Muskelgewebe laufend quantitativ zu erfassen. Die Versuchsanordnung ist in ihren Grundzügen in

Abb. 1 wiedergegeben. Das untere Ende eines etwa 11 cm hohen beiderseits offenen Glaszylinders von 2 cm Durchmesser und 30 ccm Fassungsvermögen besitzt einen aufgeworfenen geschliffenen Rand, auf den ein ebenfalls geschliffener Glasring von 2 cm Durchmesser paßt, der mittels zweier kräftiger Drahtspiralen fest gegen den unteren Rand des Glaszylinders gepreßt werden kann. Die obere Öffnung des Zylinders ist durch einen Gummistopfen verschlossen, durch dessen eine Bohrung ein kurzes durch einen Hahn verschließbares Glasrohr in das Zylinderinnere führt und durch dessen zweite Bohrung der kürzere Schenkel eines nahezu rechtwinklig abgebogenen Glasrohres von 2,5 mm Durchmesser führt, der mit dem Innern des Zylinders in Verbindung steht. Der längere — etwa 60 cm — Schenkel des Glasrohrs befindet sich infolge der senkrechten Aufstellung des Zylinders in nahezu horizontaler Lage und ist an seinem Ende offen. Ein Versuch mit dieser Anordnung gestaltet sich folgendermaßen: Aus der Bauchmuskulatur eines großen Wasserfrosches wird eine kreisrunde Muskelmembran von etwa 3 cm Durchmesser herausgeschnitten und nach sorgfältigem Reinigen zwischen 2 gehärtete gleichgroße Papierfilter gelegt und Muskelmembran und Filterblättchen mittels des Glasrings gegen den unteren Rand des Glaszylinders gepreßt, so daß sie die untere Öffnung des Zylinders abschließen. Die der äußeren Haut des Frosches zugewandte Seite der Muskelmembran ist dabei dem Zylinderinnern zugekehrt. Nun werden durch das mit dem Hahn versehene Glasrohr der Zylinder und das mit dem Zylinderinnern in Verbindung stehende rechtwinklig abgebogene Glasrohr mit Flüssigkeit vollständig gefüllt und der Hahn geschlossen. Der Glaszylinder wird in einem Becherglas von mindestens 10 cm Durchmesser aufgestellt, das bis zu einer bestimmten Höhe mit genau der gleichen Flüssigkeit gefüllt ist, die im Zylinderinnern enthalten ist. Die im Becherglas befindliche Flüssigkeit wird während des ganzen Versuchs mit Sauerstoff durchperlt. Auf der Muskelmembran ruht vom Zylinderinnern her ein hydrostatischer Druck, der bestimmt ist von der Größe des Vertikalabstandes des im nahezu horizontal verlaufenden Schenkels des Glasrohrs befindlichen Flüssigkeitsmeniskus von der Muskelmembran. Auf der dem Becherglas zugekehrten Seite der Muskelmembran ruht ein hydrostatischer Druck, der von der im Becherglas befindlichen Flüssigkeitsmenge abhängig ist. Es liegt im Wesen der Versuchsanordnung, daß zwischen dem Zylinderinnern und der im Becherglas befindlichen Flüssigkeit eine hydrostatische

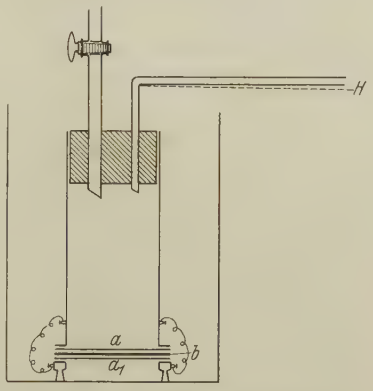


Abb. 1. a, a_1 = Papierfilter, b = Muskelmembran, H = Horizontale.

Druckdifferenz besteht. Denn ist die die untere Zylinderöffnung abschließende Muskelmembran durchlässig für Wasser, so wird sich im Bestreben, diese hydrostatische Druckdifferenz auszugleichen, vom Zylinderinnern nach dem Becherglas zu ein Flüssigkeitsstrom ausbilden, dessen Vorhandensein und Stärke an der Bewegung der im nahezu waagerecht verlaufenden Schenkel des mit dem Zylinderinnern in Verbindung stehenden Glasrohres befindlichen Flüssigkeit zu erkennen ist. Um im Verlauf des Versuchs Änderungen der hydrostatischen Druckdifferenz zu vermeiden, müßte dieser Schenkel des Glasrohres waagerecht verlaufen. Um jedoch die für die Messung notwendige Ausbildung eines Flüssigkeitsminiskus im Glasrohr zu garantieren, erhebt es sich auf je 10 cm Länge 1 mm über die Horizontale. Bei den geringen Flüssigkeitsverschiebungen ist diese minimale Veränderung der hydrostatischen Druckdifferenz praktisch ohne Bedeutung. Das Becherglas ist, wie bereits erwähnt, so groß, daß sich der Flüssigkeitsspiegel darin praktisch nicht ändert. Eine andere Ursache — als die eben beschriebene der hydrostatischen Druckdifferenz —, die eine Wasserbewegung in der geschilderten Richtung bedingen könnte, ist auszuschließen. Eine durch Osmose hervorgerufene Wasserverschiebung kommt deshalb nicht in Frage, weil sich auf beiden Seiten der Membran die gleichen Lösungen befinden. Es könnte eine Abnahme der im Zylinderinnern befindlichen Flüssigkeitsmenge dadurch vorgetäuscht werden, daß sich die Muskelmembran unter der Einwirkung des auf ihr lastenden Überdrucks nach unten ausbuchtete und dadurch den Innenraum des Zylinders vergrößert. Daß dies selbst bei hohen hydrostatischen Druckdifferenzen nicht der Fall ist, haben uns viele Versuche gezeigt: denn kamen Muskelmembranen, die in isotonischer NaCl-Lösung für Wasser vollkommen undurchlässig waren, zur Untersuchung, so blieb von der zweiten Minute des Versuchsbeginns an über Stunden hinweg der Flüssigkeitsminiskus unbeweglich auf seiner Ausgangsstellung stehen. Jedoch die meisten untersuchten Muskelmembranen zeigten nach ihrer Herausnahme aus dem Gesamtverband des Körpers in isotonischer NaCl-Lösung eine lebhafte Flüssigkeitsbewegung, die erst nach 1—3 Stunden zum Stillstand kam. Als Beispiel dafür diene der Versuch in Tabelle 3. Im Verlauf von 2 Stunden nimmt die Wasserpermeabilität der Muskelmembran dauernd ab und

Tabelle 3. Hydrostatische Druckdifferenz 9,45 cm; Temperatur 19,5°C.

	Zeit in Minuten	Permeierte Wassermenge in cmm		Zeit in Minuten	Permeierte Wassermenge in cmm
0,68%ige NaCl-Lösung	0—10	683,7	0,68%ige NaCl-Lösung	70—80	26,5
	10—20	169,6		80—90	13,25
	20—30	135,1		90—100	10,6
	30—40	113,9		100—110	7,9
	40—50	100,6		110—120	0,0
	50—60	87,4		120—130	0,0
	60—70	39,7		130—140	0,0

kommt nach dieser Zeit vollkommen zum Stillstand. Dieses Verhalten zeigten weitaus die meisten von uns untersuchten Muskelpräparate. Diese Permeabilität ist wohl am zwanglosesten zu erklären als aktive Funktion des überlebenden Organs. Denn bekanntlich wird eine in den Bauchlymphsack injizierte isotonische NaCl-Lösung leicht von der Oberfläche der Bauchmuskulatur aufgenommen. In der gleichen Richtung bewegt sich in unserer Versuchsanordnung der durch die Muskelmembran permeierende Flüssigkeitsstrom. Für diese Annahme spricht weiter, daß diese biologische Funktion geraume Zeit nach Herausnahme der Muskelmembran aus dem lebenden Organismus vollkommen erlischt. Wir haben bei der Durchführung unserer Versuche das Aufhören dieser „physiologischen Permeabilität" nicht abgewartet, weil die durch die von uns untersuchten Stoffe hervorgerufenen Permeabilitätsänderungen der Membranen so bedeutend waren, daß dadurch die Ergebnisse unserer Versuche zumindest in qualitativer Hinsicht an Beweiskraft nichts einbüßten.

Es sollen nun an Hand von Versuchsprotokollen die an Muskelmembranen durch Harnstoff hervorgerufenen Änderungen der Wasserpermeabilität aufgezeigt werden, und weiterhin gezeigt werden, daß Narkotica die Harnstoffwirkung antagonistisch beeinflussen, Traubenzucker dagegen unter gewissen Bedingungen die Harnstoffwirkung in hohem Maße verstärkt. In dem in Tabelle 4 wiedergegebenen Versuch wurde der Einfluß

Tabelle 4. Hydrostatische Druckdifferenz 11 cm; Temperatur 20° C.

	Zeit in Minuten	Permeierte Wassermenge in cmm
0,68 %ige NaCl-Lösung	0—10	18,5
„ „	10—20	10,6
„ „	20—30	10,6
„ „ + 0,5 % Harnstoff...	30—40	38,2
„ „ + „ „ ...	40—50	38,2
„ „ + „ „ ...	50—60	68,9
„ „ + „ „ ...	80—90	123,8
„ „ + „ „ ...	110—120	164,2
„ „ + „ „ ...	140—150	212,0
„ „ + „ „ ...	170—180	212,0

des Harnstoffs auf die Wasserpermeabilität über mehrere Stunden hin beobachtet. Unter der Einwirkung von 0,5 % Harnstoff, der nach 30 Minuten der 0,68 %igen NaCl-Lösung zugesetzt wurde, nimmt die Wasserpermeabilität im Verlaufe von 2 Stunden auf über das 20fache zu, um sich dann für längere Zeit konstant zu halten. Die Tatsache, daß die Wasserpermeabilität, die in isotonischer NaCl-Lösung, wie in Abb. 3 gezeigt wurde, ständig abnimmt, in Gegenwart von Harnstoff mit der Dauer der Einwirkungszeit aber stetig zunimmt, zeigt, daß mit dem Ein- und Durchdringen des Harnstoffs ins Muskelgewebe eine Änderung des physikalisch-chemischen Zustandes der die Muskulatur aufbauenden Kolloide vor sich

Tabelle 5. Hydrostatische Druckdifferenz 13 cm.

	Zeit in Minuten	Permeierte Wassermenge in cmm
0,7 %ige NaCl-Lösung	0—15	135,1
„ „ + 0,5 % Harnstoff....	15—30	524,7
„ „ + 1,0 % „	30—45	882,4
„ „ + 2,0 % „	45—60	3015,7
„ „	60—75	9,6

gehen muß, die als die Ursache der Permeabilitätssteigerung anzusehen ist. Wir haben bereits im ersten Teil unserer Untersuchungen gezeigt, daß es sich dabei um den Vorgang der Quellung handelt. In weiteren Versuchen wurde die Abhängigkeit der Stärke der Wasserpermeabilität von der anwesenden Harnstoffkonzentration untersucht. Tabelle 5 zeigt, daß mit steigender Harnstoffkonzentration auch die Durchlässigkeit der Muskulatur zunimmt. In Gegenwart von 2 % Harnstoff ist die in der Zeiteinheit vom Zylinderinnern nach außen durchgetretene Flüssigkeitsmenge auf über das 22fache des Normalwertes angestiegen, wie aus den Zahlen in Spalte 4 der Tabelle hervorgeht. Die mit der steigenden Harnstoffkonzentration proportionale Zunahme der Wasserdurchlässigkeit ist als Folge einer schnelleren und intensiveren Durchdringung des Muskelgewebes mit Harnstoff zu betrachten, für die als Ursache die Zunahme des Harnstoffdiffusionsgefälles in Frage kommt. In analoger Weise nimmt mit sinkender Harnstoffkonzentration auch der Grad der Wasserdurchlässigkeit der Muskelmembranen ab, wie aus Tabelle 6 hervorgeht. Entfernt man den Harnstoff

Tabelle 6. Hydrostatische Druckdifferenz 7 cm.

	Zeit in Minuten	Permeierte Wassermenge in cmm
0,7 %ige NaCl-Lösung	0—10	673,0
„ „ + 2,0 % Harnstoff	10—20	3911,0
„ „ + 1,0 % „	20—30	2710,0
„ „ + 0,5 % „	30—40	933,0
„ „	40—50	0,0

vollständig und bringt die Membranen in reine isotonische NaCl-Lösung zurück, so verlieren sie ihre Eigenschaft der Wasserdurchlässigkeit vollkommen. Die Erklärung dieses Befundes werden wir weiter unten im Zusammenhang erörtern.

Daß Narkotica in narkotisch wirksamen Konzentrationen, isotonischer NaCl-Lösung zugesetzt, die Wasserpermeabilität der Bauchmuskulatur des Frosches herabzusetzen bzw. aufzuheben vermögen, hat bereits Winterstein[2] festgestellt. Kochmann[3] hat gezeigt, daß der Gastrocnemius des Frosches, der sich in 0,7 %iger NaCl-Lösung befindet,

[2] Biochem. Z. **75**, 71 (1916). — [3] Ebenda **136**, 49 (1923).

wenn man der isotonischen NaCl-Lösung Narkotica in narkotisch wirksamen Konzentrationen zusetzt, gegenüber dem Kontrollmuskel an Gewicht verliert. An der Fibrinflocke hat ebenfalls Kochmann[3] den entquellenden bzw. quellungshemmenden Einfluß von Narkotica nachgewiesen. Diese Befunde Kochmanns wurden in neuerer Zeit noch durch weitere ergänzt (P. Wels[4], H. G. Barbour[5], I. Sivadjian[6]). Auf Grund dieser Beobachtungen über den permeabilitätsvermindernden und quellungshemmenden Charakter der Narkotica kann man erwarten, daß die starke Erhöhung der Wasserpermeabilität durch Harnstoff, wenn sie auf einer Quellungssteigerung der Gewebskolloide beruht, durch Narkotica herabgesetzt bzw. aufgehoben werden kann. Wir haben drei Narkotica, nämlich Chloroform, Chloralhydrat und Amylalkohol, auf ihre antagonistische Beeinflussung der Harnstoffwirkung untersucht. Die wasserentziehenden Eigenschaften dieser drei Narkotica sind nach Kochmann[3] besonders stark. Wir bringen in Tabelle 7 einen Versuch in der Ausführlichkeit, mit der tatsächlich jeder Versuch durchgeführt wurde, nämlich mit den Angaben der jeweils innerhalb 5 Minuten von innen nach außen durchgetretenen Flüssigkeitsmenge. Aus dem ersten Teil der Tabelle ist zu ersehen, wie die normale Fähigkeit des

Tabelle 7. Hydrostatische Druckdifferenz 10,8 cm.

	Zeit in Minuten	Permeierte Wassermenge in cmm
0,69 %ige NaCl-Lösung	0— 5	392,2
„ „	5—10	159,0
„ „	10—15	63,6
„ „	15—20	76 8
„ „	20—25	23,8
„ „	25—30	7,95
„ „	30—35	5,3
„ „	35—40	5,3
„ „	40—45	2,65
„ „	45—50	2,65
„ „	50—55	2,65
„ „	55—60	0,0
„ „ +2,0 % Harnstoff	60—65	50,35
„ „ „ „	65—70	106,0
„ „ „ „	70—75	182,85
„ „ „ „	75—80	233,2
„ „ „ „ +0,25 % Chloroform	80—85	212,0
„ „ „ „ „ „	85—90	141,1
„ „ „ „ „ „	90—95	68,9
„ „ „ „ „ „	95—100	13,25
„ „ „ „ „ „	100—105	10,6
„ „ „ „ „ „	105—110	2,65
„ „ „ „ „ „	110—115	1,32
„ „ „ „ „ „	115—120	0,0

[4] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **116**, 67 (1926). — [5] Science (N. V.) **73**, 346 (1931). — [6] Bull. Sci. pharmacol. **40**, 292 (1933).

dem Körperverband entnommenen Muskelgewebes, für Wasser in der Richtung von außen nach innen permeabel zu sein, im Laufe einer Stunde vollkommen verlorengeht. Die Muskelmembran erhält jedoch bereits in den ersten 5 Minuten nach Zusatz von Harnstoff wieder die Fähigkeit, für Wasser durchlässig zu sein. Die Wasserpermeabilität nimmt als Folge der stärkeren Durchdringung des Gewebes mit Harnstoff von 5 Minuten zu 5 Minuten weiter zu. Setzt man auf der Höhe der durch Harnstoff erreichten Wasserdurchlässigkeit der Muskelmembran 0,25 % Chloroform der NaCl-Harnstofflösung zu, so sinkt mit der Dauer der Einwirkungszeit des Chloroforms die durch die Muskelmembran durchtretende Wassermenge dauernd ab und erreicht nach 50 Minuten den Nullwert. Zu den gleichen Resultaten führten Versuche, die mit Chloralhydrat angestellt wurden. Als Beispiel diene der in Tabelle 8 angeführte Versuch. Die in 0.68 %iger NaCl-Lösung

Tabelle 8. Hydrostatische Druckdifferenz 14,5 cm.

	Zeit in Minuten	Permeierte Wassermenge in cmm
0,68 %ige NaCl-Lösung	20—25	0,0
„ „	25—30	0,0
„ „ +1,0 % Harnstoff	30—35	68,9
„ „ „ „	35—40	132,8
„ „ „ „	40—45	222,6
„ „ „ „	45—50	243,8
„ „ „ „	50—55	257,1
„ „ „ „ + 0,5 % Chloralhydrat	55—60	41,7
„ „ „ „ „ „	60—65	31,8
„ „ „ „ „ „	65—70	26,5
„ „ „ „ „ „	70—75	21,2
„ „ „ „	75—80	23,85
„ „ „ „	80—85	13,25
„ „ „ „	85—90	10,6
„ „ „ „	90—95	10,6

eingetretene Undurchlässigkeit für Wasser wird durch Zugabe von 1 % Harnstoff wieder aufgehoben. Die auf der Höhe der Harnstoffwirkung zugesetzte Menge von 0,5 % Chloralhydrat setzt die Wasserpermeabilität sofort stark herab. Auch durch Entfernen des Chloralhydrats aus der NaCl-Harnstofflösung wird die Wirkung des Narkoticums auf die Permeabilität der Muskelmembran nicht aufgehoben. Noch deutlicher wird der Antagonismus Harnstoff—Narkoticum bei Betrachtung des in Tabelle 9 in gekürzter Form wiedergegebenen Versuchsprotokolls. Unter der Einwirkung von 0,5 % Chloralhydrat stieg in dem mit dem Zylinderinnern in Verbindung stehenden Glasrohr der Flüssigkeitsminiskus, wie aus dem negativen Vorzeichen hervorgeht, in gerade entgegengesetzter Richtung an, so, als wäre Flüssigkeit von außen in das Innere des Zylinders eingetreten. Da dies jedoch infolge der hydrostatischen Druckdifferenz von 16 cm nicht der Fall sein kann, ist dieser Befund nur so zu erklären, daß die normaler-

Tabelle 9. Hydrostatische Druckdifferenz 16 cm.

	Zeit in Minuten	Permeierte Wassermenge in cmm
0,7%ige NaCl-Lösung	40—60	61,0
„ „ +0,5% Chloralhydrat	60—80	— 18,5
„ „ „ „ + 6,0% Harnstoff	80—100	95,4
„ „ „ „	100—120	— 55,6
„ „ „ „ + 6,0% Harnstoff	120—140	63,6

weise unter der Einwirkung des hydrostatischen Überdruckes nach unten leicht ausgebuchtete Muskelmembran unter dem Einfluß des Narkoticums so stark entquillt und schrumpft, daß sie durch Verkleinerung des Zylinderinnenraums die im nahezu waagerecht verlaufenden Schenkel des Glasrohrs befindliche Flüssigkeit in entgegengesetzter Richtung bewegt. Durch Zusatz von 6% Harnstoff läßt sich wieder eine echte Wasserbewegung vom Zylinderinnern nach außen erzielen. Die Tatsache, daß Harnstoff — allerdings in relativ hoher Konzentration — die durch das Narkoticum verursachte Entquellung und Retraktion der Muskelmembran nicht allein wieder aufhebt, sondern sogar für Wasser wieder durchgängig macht, beweist, daß die Wirkung des Harnstoffs auf einer Quellung und Auflockerung des Muskelgewebes beruhen muß. Schließlich sei in Tabelle 10 ein Versuch

Tabelle 10. Hydrostatische Druckdifferenz 12 cm.

	Zeit in Minuten	Permeierte Wassermenge in cmm
0,68%ige NaCl-Lösung	0—10	106,0
„ „	10—20	47,7
„ „ +0,5% Amylalkohol	20—30	26,5
„ „ „ „	30—40	15,8
„ „ „ „ + 1,0% Harnstoff	40—50	159,0
„ „ „ „ „ „	50—60	59,0
„ „ „ „	60—70	0,0
„ „ „ „	70—80	0,0
„ „ „ „ + 2,0% Harnstoff	80—90	26,5
„ „ „ „ „ „	90—100	15,9

angeführt, der zeigen soll, daß die durch Amylalkohol herabgesetzte bzw. vollkommen aufgehobene Permeabilität der Muskelmembran für Wasser durch Zusatz von Harnstoff wieder in Gang gesetzt werden kann.

Seit Overtons Versuchen am Froschgastrocnemius wurde immer wieder bestätigt, daß der quergestreifte Muskel für Zucker nahezu impermeabel ist. Andererseits ist von Emden und Adler[7], Vogel[8], Hiruma[9] und anderen eine durch Rohrzucker bewirkte erhöhte Durchlässigkeit des

[7] Z. physiol. Chem. **118**, 34 (1922). — [8] Ebenda **118**, 63 (1922). — [9] Pflügers Arch. **200**, 497 (1923).

Tabelle 11. Hydrostatische Druckdifferenz 13,5 cm.

	Zeit in Minuten	Permeierte Wassermenge in cmm
0,68%ige NaCl-Lösung	0—10	121,9
„ „	10—20	47,7
„ „ +0,2% Traubenzucker	20—30	7,9
„ „ „ „	30—40	5,3
„ „ „ „ +1,0% Harnstoff	40—50	302,1
„ „ „ „ „ „	50—60	392,8
„ „ „ „	60—70	0,0
„ „ „ „	70—80	— 5,3

Tabelle 11a. Hydrostatische Druckdifferenz 16,9 cm.

0,69%ige NaCl-Lösung	0—10	233,2
„ „ +0,5% Traubenzucker	10—20	169,6
„ „ „ „ +0,7% Harnstoff	20—30	795,0
„ „ „ „	30—40	5,3
„ „ „ „ +1,5% Harnstoff	40—50	408,1

quergestreiften Froschmuskels für eine große Anzahl Stoffe festgestellt worden. Es sollen durch Zucker die äußersten Grenzschichten des quergestreiften Muskels so verändert werden, daß sie eine erhöhte Durchlässigkeit für vielerlei Stoffe bekommen. Wie aus den Versuchsprotokollen in Tabelle 11 zu ersehen ist, übt Traubenzucker in kleinen Mengen einen wesentlichen Einfluß auf die Wasserpermeabilität der Muskelmembran nicht aus. Die permeierende Flüssigkeitsmenge nimmt etwas stärker ab als es in reiner NaCl-Lösung der Fall sein würde. Auffallend stark jedoch ist in diesen Versuchen die Wirkung von 1 bzw. 1,5% Harnstoff auf die Wasserpermeabilität in Gegenwart des Traubenzuckers. Die Abnahme der Wasserpermeabilität nach Zusatz kleiner Mengen Traubenzucker zur isotonischen NaCl-Lösung beruht sehr wahrscheinlich auf dessen osmotischer Wirksamkeit. Er entzieht der Muskelmembran, da er für sie nahezu impermeabel ist, Wasser, und führt so durch Entquellung zu einer Verminderung der Permeabilität. Der enorme Anstieg der Wasserpermeabilität, der durch Harnstoffzusätze in Gegenwart kleiner Mengen Traubenzucker

Tabelle 12. Hydrostatische Druckdifferenz 14,5 cm.

	Zeit in Minuten	Permeierte Wassermenge in cmm
0,68%ige NaCl-Lösung	0—20	2,65
„ „ +0,7% Harnstoff	20—40	63,6
„ „ „ „ +0,25% Traubenzucker	40—60	119,25

Tabelle 12a. Hydrostatische Druckdifferenz 13,8 cm.

0,68%ige NaCl-Lösung	0—15	13,3
„ „ +1,5% Harnstoff	15—30	58,3
„ „ „ „ +0,5% Traubenzucker	30—40	206,7

Tabelle 13. Hydrostatische Druckdifferenz 14 cm.

	Zeit in Minuten	Permeierte Wassermenge in cmm
0,68%ige NaCl-Lösung	0—15	302,1
„ „ + 1,0% Traubenzucker	15—30	161,6
„ „ „ „ + 0,7% Harnstoff	30—45	376,3
„ „ „ „ „ „	45—60	397,5
„ „ + 0,7% Harnstoff	60—75	60,9

zu erzielen ist, zeigt, daß Traubenzucker die Harnstoffwirkung unterstützt. Weitere Versuche haben diese Annahme bestätigt (siehe Tabelle 12). Denn hat man durch Zusatz von Harnstoff zur isotonischen NaCl-Lösung eine erhöhte Wasserdurchlässigkeit der Muskelmembran erreicht, so wird sie durch Hinzufügen kleiner Mengen Traubenzuckers noch bedeutend gesteigert. Als Beispiel hierfür seien in Tabelle 12 zwei Versuchsprotokolle angeführt. Das Versuchsprotokoll in Tabelle 13 zeigt, daß auch höhere Traubenzuckerkonzentrationen auf die Wasserpermeabilität der Muskelmembran ohne Einfluß sind. Doch geht aus dem Versuch gleichzeitig hervor, in welch hohem Maße die Harnstoffwirkung durch die Anwesenheit von Traubenzucker beeinflußt wird. Denn nach Entfernen des Traubenzuckers sinkt trotz Verbleibens des Harnstoffs in der Lösung die permeierende Flüssigkeitsmenge auf ein Sechstel herab. Die in den eben angeführten Versuchen erhobenen Befunde lassen zwei Möglichkeiten zu, die Steigerung der Harnstoffwirkung durch die Anwesenheit von Traubenzucker zu erklären. Entweder wird die Durchlässigkeit der äußeren Grenzschichten der Muskulatur, wie das für eine größere Anzahl anderer Stoffe durch die oben genannten Autoren festgestellt worden ist, auch für Harnstoff durch die Anwesenheit von Traubenzucker erhöht. Es könnte dann Harnstoff rascher und reichlicher in das Muskelgewebe eindringen und dort sein quellungsfördernder und permeabilitätssteigernder Einfluß rascher und in stärkerem Maße wirksam werden. Doch ist es nicht ausgeschlossen, daß umgekehrt Harnstoff das Eindringen von Zucker in das Muskelgewebe ermöglicht und nun der Zucker seinen quellungsfördernden Einfluß geltend macht. Denn nach Angaben von Bechold[10] besitzt Traubenzucker, jedenfalls in den von uns angewandten Konzentrationen, auf die Fibrinflocken- und Gelatinequellung einen fördernden Einfluß. Die Annahme, ob Muskelgewebe in Gegenwart von Harnstoff für Traubenzucker permeabel wird, ist jedoch noch unbewiesen.

Besprechung.

Es konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, daß Harnstoff die Quellfähigkeit reiner Gelatinemembranen im Verhältnis zur zugesetzten Harnstoffkonzentration erhöht. Die Quellfähigkeit mechanisch zerkleinerter

[10] Die Kolloide in Biologie und Medizin, 1929, S. 77.

quergestreifter Froschmuskulatur wird ebenfalls unter der Einwirkung kleiner Harnstoffkonzentrationen gesteigert. Weiterhin beweist der in Tabelle 10 mitgeteilte Versuch, daß dem permeabilitätssteigernden Einfluß des Harnstoffs der Vorgang der Quellung und Auflockerung des Gewebes zugrunde liegen muß. Als Quellungs- bzw. Entquellungsvorgang ist auch, wie bereits erwähnt, der antagonistische Einfluß der Narkotica auf die Harnstoffwirkung zu verstehen. Die von uns angewandte Methode der Permeabilitätsmessung bot die Möglichkeit, die Durchlässigkeit einer Muskelmembran für Wasser laufend zu kontrollieren. Es wurde mit dieser Methode das Vorhandensein einer „physiologischen Permeabilität" der Bauchmuskulatur des Frosches in der Richtung von außen nach innen nachgewiesen. Sie war von Tier zu Tier sehr verschieden. So kamen z. B. Muskelmembranen zur Untersuchung, die von vornherein für Wasser vollkommen undurchlässig waren. Andere dagegen zeigten in isotonischer NaCl-Lösung eine recht lebhafte Permeabilität, die erst mehrere Stunden nach Tötung des Tieres und Herausnahme der Muskelmembran erlosch. Auf eine Besprechung der Ursachen, des Ablaufs und der verschiedenen Beeinflussung der durch Harnstoff verursachten Permeabilitätssteigerung kann verzichtet werden, da es bereits oben an Hand der Versuchsprotokolle geschehen ist. Es bleibt schließlich noch die Besprechung eines in nahezu allen Versuchen wiederkehrenden Befundes: Wurden nach Entfernen des Harnstoffs die Muskelmembranen wieder in reine isotonische NaCl-Lösung gebracht, so verloren sie ihre Durchlässigkeit für Wasser nahezu vollkommen. Der erneute Zusatz von Harnstoff in gleichen oder höheren Konzentrationen wirkte zwar wieder permeabilitätssteigernd, jedoch niemals in dem Maße wie bei der erstmaligen Zugabe. Dieser Vorgang beruht zweifellos darauf, daß beim Entfernen des Harnstoffs die Gewebskolloide stark dehydratisiert werden, d. h. daß ihr Quellungs- und Löslichkeitsvermögen stark abnimmt, wodurch die Schrumpfung und Permeabilitätsverminderung der Muskelmembranen zu erklären ist. Die experimentellen Unterlagen, die zum Beweis dieser Annahme dienten, wurden den Arbeiten von Beck und Schormüller[11], Williams und Watson[12] und einer eigenen Arbeit[13] entnommen.

Bekanntlich werden bei der Urämie je nach der Schwere der Niereninsuffizienz erhebliche Mengen von Harnstoff im Körper zurückgehalten. Es läßt sich in extremsten Fällen in Gewebe und Gewebsflüssigkeit ein Harnstoffgehalt bis zu 0,5% nachweisen. Harnstoffkonzentrationen also, die bereits einen deutlichen Einfluß auf die Quellung von Gelatinemembranen und die Quellung und Wasserpermeabilität von quergestreifter Muskulatur haben. Man darf daher annehmen, daß eine Reihe von Symptomen, die das Bild der schweren urämischen Harnstoffvergiftung begleiten, hervor-

[11] Kolloid-Z. **80**, 333 (1937). — [12] Nature (London) **1**, 506 (1937). — [13] Naunyn-Schmiedebergs Arch **191**, 226 (1938).

gerufen sind durch Änderungen im Quellungszustand der den Organismus aufbauenden Kolloide und durch Änderung der Permeabilität der Zellgrenzflächen, die als Garant der normalen Zellfunktion angesehen werden muß.

Zusammenfassung.

1. Es wurde eine Methode beschrieben zur laufenden Messung der Wasserpermeabilität einer Muskelmembran.

2. Harnstoff bewirkt in zunehmenden Konzentrationen eine entsprechende Erhöhung des Quellungsvermögens von Gelatinemembranen.

3. Der Einfluß geringer Harnstoffkonzentrationen (0,1—0,5 %) auf die Erhöhung des Quellungsvermögens mechanisch zerkleinerter quergestreifter Froschmuskulatur ist stärker als der höherer Harnstoffkonzentrationen (0,5—2,0 %).

4. Es läßt sich an in isotonischer NaCl-Lösung befindlichen Muskelmembranen aus der Bauchmuskulatur des Frosches eine individuell verschieden starke physiologische Permeabilität für Wasser nachweisen, die 1—3 Stunden nach Überleben erlischt.

5. Harnstoff steigert in hohem Maße die Wasserpermeabilität von Muskelmembranen aus der Bauchmuskulatur des Frosches.

6. Die durch Harnstoff verursachte erhöhte Wasserpermeabilität wird durch Narkotica gehemmt, durch Traubenzucker verstärkt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg.

Der Einfluß des Harnstoffs auf das Froschherz.

Von

Fritz Heim.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. September 1938.)

Von den Autoren, die den Einfluß des Harnstoffs auf die Tätigkeit des Kaltblüterherzens untersucht haben, wurde mit wenigen Ausnahmen dem Harnstoff — in kleinen Konzentrationen der Durchströmungsflüssigkeit zugesetzt — eine erregende, die Leistung steigernde Wirkung zugesprochen. Konzentrationen über 1% sollen bereits eine Abnahme der Erregbarkeit und der Ventrikelkontraktionen hervorrufen, Harnstoffkonzentrationen über 4% endlich sollen zum Herzstillstand führen. Unter diesen Arbeiten sind von Interesse die Untersuchungen von Eyster und Wilde[1], aus denen hervorgeht, daß NaCl oder Traubenzucker in gleicher osmotischer Konzentration wie Harnstoff der Durchströmungsflüssigkeit zugesetzt, dessen die Kontraktion fördernden Einfluß auf das Kaltblüterherz nicht besitzen. Die Autoren sind der Meinung, daß die Harnstoffwirkung deshalb im Gegensatz zu der hypertonischer NaCl- und Traubenzuckerlösungen von gleichem osmotischen Druck als eine spezifische Eigenschaft des Harnstoffs angesehen werden muß. In folgenden Untersuchungen soll versucht werden, diese „spezifische Harnstoffwirkung" als auf den physikalisch-chemischen Eigenschaften des Harnstoffs beruhend zu erklären und somit Einblick zu gewähren in die Ursachen und den Mechanismus der Harnstoffwirkung überhaupt. Um mit Sicherheit osmotische Einflüsse, die durch Zusatz von Harnstoff zur Durchströmungsflüssigkeit zustande kommen könnten, auszuschließen, wurden Harnstoff bzw. NaCl in gleichen osmotischen Konzentrationen der Durchströmungsflüssigkeit zugesetzt, in ihrer Wirkung auf die Tätigkeit des Kaltblüterherzens miteinander verglichen. Es wurde weiterhin untersucht, in welcher Weise Harnstoff die Kontraktionsvorgänge am normalen und am funktionell veränderten Herzen beeinflußt. Es wurde bereits oben angedeutet, daß die Wirkung des Harnstoffs auf das Herz physikalisch-chemische Zustandsänderungen zur Grundlage haben wird, und deshalb ist es nötig, kurz auf die physikalisch chemischen Eigenschaften des Harnstoffs einzugehen. Wir haben bereits in früheren Arbeiten[2,3] nachgewiesen, daß in Gegenwart von Harnstoff das Wasseraufnahme- und Wasserbindungsvermögen von Eiweißlösungen und Eiweißgelen erhöht ist.

---

[1] J. of Pharmacol. a. exp. Ther. **1**, 391 (1909). — [2] Biochem. Z. **291**, 88 (1937). — [3] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 212 (1938).

Die quergestreifte Muskulatur des Frosches zeigt in Gegenwart von Harnstoff eine Zunahme ihres Quellungsvermögens und damit verbunden eine erhöhte Durchlässigkeit für Wasser. Von Beck und Schormüller[4] wurde bewiesen, daß die die Eiweißhydratation steigernde Wirkung des Harnstoffs einhergeht mit einer vermehrten Löslichkeit für Eiweiß, und zwar nimmt die Löslichkeit von Muskeleiweiß mit steigernder Harnstoffkonzentration entsprechend zu. Williams und Watson[5] haben das Molekulargewicht von Eieralbumin, das in 50%iger wässeriger Harnstofflösung gelöst war, untersucht und gefunden, daß es nur die Hälfte des normalen beträgt. Nach Entfernen des Harnstoffs durch Dialyse bekommt das Eiweißmolekül sein früheres normales Molekulargewicht. Eigene Untersuchungen[2] haben gezeigt, daß die Wirkung des Harnstoffs auf die Wechselbeziehung zwischen Eiweißkörper und Wasser nicht auf einer Änderung der Eiweißionisation beruht. Es handelt sich vielmehr um eine Hydratationssteigerung, die sich am Kolloidgel als Erhöhung des Quellungsvermögens, an gelösten Eiweißkörpern in einer Steigerung ihrer Löslichkeit zeigt. Die Bedeutung dieser physikalisch-chemischen Eigenschaften des Harnstoffs für die Erklärung der durch ihn verursachten funktionellen Zustandsänderungen am Herzen geht unter Berücksichtigung der Untersuchungsergebnisse von Deuticke[6] noch klarer hervor. Deuticke hat den Nachweis geführt, daß eine verminderte Arbeitsleistung des quergestreiften Muskels mit einer Verminderung der Löslichkeit seiner Proteine einhergeht. Es ließ sich zeigen, daß die Stärke der Abnahme der Proteinlöslichkeit proportional ist der vom Muskel vorher geleisteten Arbeit, und daß nach Erholung des Muskels seine Proteinlöslichkeit wieder zunimmt. Es ist damit deutlich gezeigt, daß mit Änderungen der Leistungsfähigkeit des Muskels Änderungen im physikalisch-chemischen Zustand der Muskelkolloide einhergehen im Sinne einer Löslichkeitsverminderung bzw. Löslichkeitszunahme. Die folgenden Untersuchungen werden zeigen, daß tatsächlich äußere Einflüsse, die den Quellungs- bzw. Löslichkeitszustand der Muskelkolloide verändern, damit gleichzeitig zu bestimmten Änderungen im Funktionszustand und somit der Leistungsfähigkeit des Herzens führen.

Untersuchungen.

Läßt man ein isoliertes Froschherz, das an einer mit 1 ccm Normal-Ringer gefüllten Straubschen Kanüle hängt, unter einer durch Zusatz von 2,5 mg NaCl hypertonisch gemachten Ringerlösung schlagen — wie das in dem in Abb. 1 wiedergegebenen Versuch geschehen ist —, so nimmt zuerst unter gleichzeitigem Anstieg der Fuß- und Gipfelpunkte die Hubhöhe etwas gegenüber der Norm zu. Doch bereits nach $4^1/_2$ Minuten beginnt die Kontraktionshöhe schon abzunehmen und beträgt nach 13 Minuten nicht

[4] Kolloid-Z. **80**, 333 (1937). — [5] Nature (London) **1**, 506 (1937). — [6] Pflügers Arch. **224**, 1 (1930)

mehr die Hälfte der normalen. Auf eine zweite zu diesem Zeitpunkt erfolgte Zugabe von abermals 2,5 mg NaCl reagiert die Kammer mit einer kurzen Zunahme der Kontraktionshöhe, die sehr rasch gefolgt ist von einem steilen Abfall der Gipfelpunkte unter raschem Anstieg der Fußpunkte. Auf Zusatz von 5 mg Harnstoff — eine Menge, die in ihrer osmotischen Wirksamkeit 2,5 mg NaCl entspricht — gerät die Kammer momentan in systolische Kontraktur, aus der sie sich spontan wieder erholt, um allerdings mit stark verminderten Amplituden weiter zu schlagen. Entfernt man den Kanüleninhalt und ersetzt ihn durch Normalringer, so erreicht das Herz nach einer gewissen Zeit wieder seine normale Leistungsfähigkeit. Setzt man nun dem

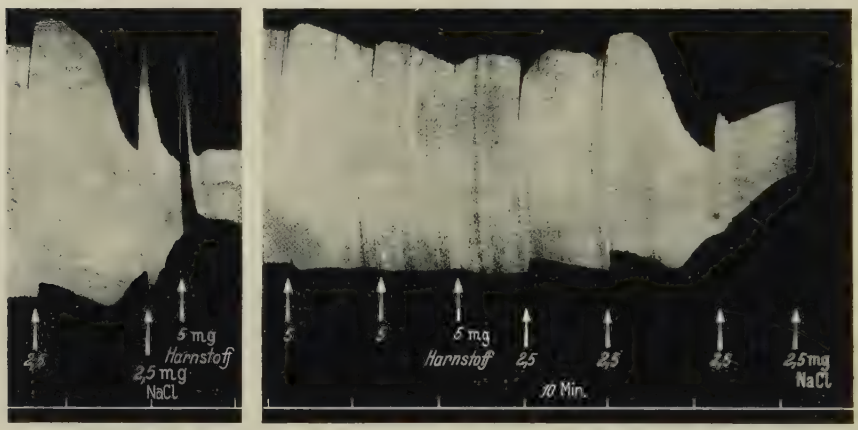


Abb. 1.

Normalringer 5 mg Harnstoff zu — eine Menge, die, wie bereits gesagt, in ihrer osmotischen Wirksamkeit 2,5 mg NaCl entspricht — so nimmt die Hubhöhe anfangs etwas zu, um dann für längere Zeit nahezu normal zu bleiben. Auch auf eine zweite und eine dritte Zugabe von je 5 mg Harnstoff zur Nährflüssigkeit tritt eine wesentliche Änderung der Hubhöhen nicht auf. Es verhalten sich also ismotische Mengen von Harnstoff hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Kontraktilität der Kammer vollkommen anders wie von NaCl. Werden 30 Minuten nach Zugabe der ersten Harnstoffmenge zum Kanüleninhalt 2,5 mg NaCl zugesetzt, so übt diesmal — also in Gegenwart von 15 mg Harnstoff in der Ringerlösung — die Zugabe von 2,5 mg NaCl keinerlei schädigenden Einfluß auf die Kontraktilität der Kammer aus. Erst wenn man durch eine zweite Zugabe von 2,5 mg NaCl seine osmotische Wirkung verdoppelt, wird eine Wirkung auf die Kontraktilität der Kammer sichtbar, wie sie zu Beginn des Versuchs bereits nach der ersten Zugabe von 2,5 mg NaCl aufgetreten war. Erst nach Zugabe von noch zweimal 2,5 mg NaCl tritt die Kammer in systolische Kontraktur, die im Gegensatz zu der im ersten Teil des Versuchs durch 5 mg Harnstoff hervorgerufenen sich weder spontan löst noch durch Normalringer auszuwaschen ist. Vergleicht

man den Einfluß osmotisch gleich wirksamer NaCl- und Harnstoffzusätze zur Nährflüssigkeit miteinander, so zeigt sich also, daß bereits 2,5 mg NaCl Normalringer zugesetzt die Leistungsfähigkeit des Herzens stark herabsetzen und die Kammer in eine systolische Kontrakturbereitschaft versetzen, die sich im Anstieg der Fußpunkte zu erkennen gibt. Dagegen übt selbst die dreifach osmotisch wirksame Menge Harnstoffs, also 15 mg, der Ringerlösung zugesetzt, keinerlei schädigenden Einfluß auf die Herztätigkeit aus. Daß in Gegenwart von Harnstoff die Kammermuskulatur gegenüber der osmotischen Wirkung von NaCl-Zusätzen zur Nährflüssigkeit sozusagen resistenter geworden ist, ist daran zu erkennen, daß in Gegenwart von 15 mg Harnstoff der Zusatz von 2,5 mg NaCl ohne schädigende Wirkung bleibt und erst auf eine zweite Zugabe von nochmals 2,5 mg NaCl eine Abnahme der Hubhöhen auftritt. Während in Gegenwart von nur 5 mg NaCl in der Ringerlösung bereits 5 mg Harnstoff — eine Menge, die am unvorbehandelten Herzen ohne jede kontrakturerregende Wirkung bleibt — die Kammer in systolische Kontraktur überführen, sind in Gegenwart von 15 mg Harnstoff insgesamt 10 mg NaCl nötig, um eine systolische Kontraktur der Kammer zu erreichen.

Welche physikalisch-chemischen Vorgänge liegen nun den durch Zugabe von NaCl bzw. Harnstoff hervorgerufenen dynamischen Veränderungen am Froschherzen zugrunde? Bekanntlich ist die normale tätige Muskelzelle für das NaCl-Molekül nahezu impermeabel, während das Harnstoffmolekül, wie zahlreiche Versuche bewiesen haben, in alle Organe, auch ins Muskelgewebe sehr leicht einzudringen vermag. Der Zusatz von zweimal 2,5 mg NaCl im Anfangsteil des Versuchs verursachte durch osmotischen Wasserentzug eine starke Entquellung und Permeabilitätsverminderung des Muskelgewebes, die als die Ursache der verminderten Kontraktilität der Kammermuskulatur anzusehen sind. Auch die Kontrakturbereitschaft, in die die Kammer in Gegenwart von NaCl in der Nährflüssigkeit gerät, darf man als eine Folge der durch Wasserentzug hervorgerufenen Permeabilitätsverminderung des Muskelgewebes ansehen; denn sie hemmt nicht allein die Aufnahme von O_2 aus der Nährflüssigkeit, sondern auch den Abtransport saurer Stoffwechselprodukte, die nun ihrerseits kontrakturauslösend wirken. Daß das Muskelgewebe durch die Gegenwart von NaCl in der Ringerlösung in den Zustand verminderter Durchlässigkeit versetzt wurde, beweist weiterhin die Tatsache, daß 5 mg Harnstoff im Moment der Zugabe rein osmotische Wirkungen entfalten, d. h. durch weiteren Wasserentzug, Entquellung und Verdichtung die Kammer aus der bereits vorhandenen Kontrakturbereitschaft in systolischen Stillstand überführen. Doch im Gegensatz zu der später beobachteten durch Zugabe von größeren NaCl-Mengen verursachten irreversiblen Kammerkontraktur geht die Kammer in diesem Falle in kürzester Zeit aus dem systolischen Stillstand wieder in Tätigkeit über. Die Unschädlichkeit des Harnstoffs, der im zweiten Teil des Versuchs in gleichen osmotischen Konzentrationen der Ringerlösung

zugesetzt wurde wie im Anfangsteil des Versuchs NaCl, erklärt sich daraus, daß der Harnstoff sehr rasch aus der Nährflüssigkeit ins Gewebe einzudringen vermag und dort seinen quellungssteigernden Einfluß auf die Gewebskolloide geltend macht. Es ist nicht nötig anzunehmen, daß, wie in unserm Versuch, von 15 mg Harnstoff soviel ins Muskelgewebe eindringt, daß er sich auf Gewebe und Kanüleninhalt gleichmäßig verteilt. Doch der im Gewebe vorhandene Anteil des Harnstoffs verhindert durch seinen steigernden Einfluß auf das Wasserbindungsvermögen der Gewebskolloide einen merklichen Wasserverlust. Daß in Gegenwart von Harnstoff das Muskelgewebe sogar in erhöhtem Maße Wasser aufgenommen hat und festhält, ergibt sich aus der Tatsache, daß nun die wasserentziehende Wirkung von 2,5 mg NaCl nicht genügt, einen merklichen Wasserverlust des Muskelgewebes herbeizuführen, und erst nach weiterem Zusatz von 2,5 mg NaCl ein Grad der Entquellung und Permeabilitätsverminderung erreicht ist, der zu einer Abnahme der Kontraktilität der Kammer führt.

Abb. 2.

Aus Abb. 2 möge ersichtlich werden, welch hohe Harnstoffkonzentrationen infolge des leichten Eindringungsvermögens des Harnstoffmoleküls das Herz ohne Störung seiner Leistungsfähigkeit verträgt. Nach Zugabe von bereits 12 mg Harnstoff zur Ringerlösung werden (im Anfangsteil der Abb. 2) abermals 12 mg Harnstoff der Nährflüssigkeit zugesetzt, die das Herz mit einem geringen Anstieg sowohl der Fuß- und Gipfelpunkte beantwortet. Während sich im weiteren Verlauf die Verminderung der diastolischen Erschlaffung der Kammer allmählich wieder ausgleicht, bleibt die Zunahme der systolischen Zusammenziehung bestehen. Daraus resultiert also eine durch Zugabe von Harnstoff verbesserte Kontraktilität der Kammer. Erst nach weiterer Zugabe von 24 mg Harnstoff tritt eine Abnahme der Kontraktilität des Herzens ein, die sich in einer mangelhaften diastolischen Erschlaffung der Kammer zu erkennen gibt.

Es kann an Hand dieser Abbildung noch ein Befund besprochen werden, der in allen Versuchen wiederkehrte, in denen, nachdem das Herz unter höheren Harnstoffkonzentrationen geschlagen hatte, die harnstoff-

haltige Ringerlösung aus der Kanüle entfernt und durch Normalringer ersetzt wurde. Es tritt, wie aus der Abbildung zu ersehen ist, momentan eine starke Verkürzung der Kontraktionshöhe der Kammer ein, und zwar in erster Linie auf Kosten der diastolischen Erschlaffung. Es nehmen zwar im Laufe der Zeit die Systole und Diastole der Kammer wieder zu, doch werden Hubhöhen von normalem Ausgangswert nicht wieder erreicht. Hinsichtlich seiner Wirkung auf die Kontraktilität der Kammer des Herzens gleicht dieser „Auswascheffekt" sehr der Wirkung hypertonischer Ringerlösungen bzw. dem Einfluß auf die Gewebskolloide stark entquellend wirkender Stoffe auf den Herzmuskel, wie z. B. dem Einfluß der Narkotica. Es ist daher anzunehmen, daß dieser Auswaschwirkung physikalisch-chemische Änderungen im Zustand der Muskelkolloide zugrunde liegen im Sinne einer Entquellung, Löslichkeitsabnahme und Permeabilitätsverminderung. Für diese Annahme sprechen folgende Tatsachen: Williams und Watson[5], die, wie bereits erwähnt, festgestellt haben, daß das Molekulargewicht von Eieralbumin in 50%iger wässeriger Harnstofflösung nur die Hälfte des normalen Molekulargewichts beträgt, haben weiterhin beobachtet, daß nach Entfernen des Harnstoffs mittels Dialyse 75% des gelösten Eiweiß ausgeflockt waren. Es war also die Entfernung des Harnstoffs aus der Eiweißlösung begleitet von einem Dehydratationsvorgang, der als die Ursache der Ausflockung angesehen werden muß. Es sei noch die Beobachtung von Beck und Schormüller[4] angeführt, daß in wässeriger Harnstofflösung gelöstes Muskeleiweiß durch Verdünnen der Lösung mit Wasser bei einem bestimmten Verdünnungsgrad ausflockt. Da die Eiweißfällung von keiner wesentlichen Änderung des p_H begleitet ist, so erklären die Autoren die Erscheinung ebenfalls als Dehydratationseffekt. Diese Befunde an Eiweißlösungen, die beweisen, daß mit Entfernen des Harnstoffs bzw. einer Verminderung der Harnstoffkonzentration in der Eiweißlösung Änderungen im physikalisch-chemischen Zustand der Kolloide einhergehen im Sinne einer Dehydratation, stimmen gut mit den Ergebnissen eigener Untersuchungen[3] überein über die Änderung der Wasserpermeabilität von Muskelmembranen, wie sie bei der Überführung der Muskelmembranen aus harnstoffhaltiger in reine isotonische NaCl-Lösungen zu beobachten waren; denn es ging dabei den Muskelmembranen ihre Permeabilität vollständig verloren. Überträgt man diese Beobachtungen auf die Erscheinungen, wie sie beim Auswaschen des Harnstoffs aus dem Froschherzen zu beobachten sind, so erklären sie sich als ein Vorgang der Dehydratation, der sich im speziellen charakterisiert als Entquellung, Löslichkeitsabnahme und Permeabilitätsverminderung. Daß sich das Herz von dieser Auswaschwirkung wieder teilweise erholt, ist sicher darauf zurückzuführen, daß bei einem einmaligen Wechsel des Kanüleninhalts praktisch nur ein Teil des im Muskelgewebe verankerten Harnstoffs entfernt wird; denn wird durch etwa 10—15maliges Auswaschen mit Normalringer der Harnstoff restlos aus dem Muskelgewebe entfernt, so geht die Kammer nach mehr oder

weniger kurzer Zeit unter Anstieg der Fußpunkte in systolische Kontraktur über, wobei noch viele Stunden nach dem systolischen Kammerstillstand normale Vorhofskontraktionen beobachtet werden können. Zweifellos ist dieser Kontrakturstillstand der Kammer verursacht durch eine hochgradige Entquellung bzw. sogar Ausflockung von Muskeleiweißkörpern, die eine entsprechend starke Permeabilitätsverminderung zur Folge haben.

Nachdem der Einfluß des Harnstoffs auf den Funktionszustand des normal arbeitenden Froschherzens mitgeteilt ist, soll in folgendem die

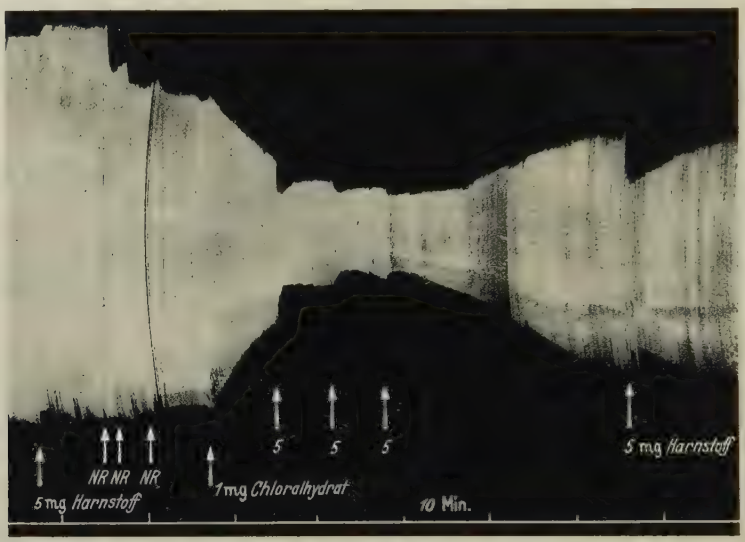


Abb. 3.

Wirkung des Harnstoffs auf das durch Narkotica in seinem physikalisch-chemischen Zustand in bestimmter Weise veränderte Organ näher untersucht werden. Knaffl-Lenz[7], Kochmann[8], Dette[9] und andere haben nachgewiesen, daß Narkotica auf reine Eiweißkörper und in gleicher Weise auf Muskelgewebskolloide dehydratisierend wirken. Durch Winterstein[10] und eigene Versuche[3] konnte gezeigt werden, daß Narkotica auch die Permeabilität von Muskelgewebe für Wasser und wasserlösliche Stoffe herabsetzen. Es zeigen, kurz gesagt, die Narkotica ein Verhalten gegenüber dem physikalisch-chemischen Zustand von Eiweißkörpern und Muskelgewebskolloiden, das dem des Harnstoffs gerade entgegengesetzt ist.

Aus dem Anfangsteil der Abb. 3 ist zu ersehen, daß die Zugabe von 5 mg Harnstoff zur Ringerlösung eine wenn auch geringe Zunahme der Kammerkontraktion zur Folge hat. Nach Entfernen des Harnstoffs schlägt

[7] Pflügers Arch. **172**, 51 (1918). — [8] Biochem. Z. **136**, 49 (1923). — [9] Ebenda **149**, 136 (1924). — [10] Biochem. Z. **75**, 71 (1916).

das Herz wiederum kurze Zeit an der mit Normalringer gefüllten Kanüle. Setzt man nun 1 mg Chloralhydrat der Normalringerlösung zu, so ändert sich die Kontraktilität der Kammer in einer Weise, die auf ein durch den Zusatz von Chloralhydrat verursachte Entquellung und Permeabilitätsverminderung schließen läßt: unter Abfall der systolischen Gipfelpunkte und steilem Anstieg der diastolischen Fußpunkte nimmt die Hubhöhe stetig ab. Setzt man nun der chloralhydrathaltigen Ringerlösung Harnstoff zu, und zwar die gleiche Menge wie zu Beginn des Versuchs, so äußert sich die Wirkung der Harnstoffzugabe in einer ganz anderen Weise wie dort. Während der Zusatz von Harnstoff zu dem mit Normalringer gespeisten Herzen eine geringe Zunahme der Kontraktilität der Kammer verursachte, tritt in Gegenwart von Chloralhydrat im Augenblicke der Zugabe des Harnstoffs ein starker Abfall der Hubhöhe ein. Die durch Chloralhydrat hervorgerufene Abnahme der Kontraktilität wird im Moment der Zugabe von Harnstoff also noch verstärkt. Die Ursache für diesen Wirkungsgegensatz vor und in Gegenwart von Chloralhydrat ist durch die von dem Narkoticum hervorgerufene Permeabilitätsverminderung zu erklären, die das Eindringen des Harnstoffmoleküls in das Muskelgewebe verhindert, so daß der Harnstoff im Kanüleninhalt zurückgehalten von dort aus eine rein osmotische Wirksamkeit auf das Gewebe entfaltet und durch Wasserentzug den Funktionszustand der Kammermuskulatur noch weiter verschlechtert. Diese Wirkung wird durch weitere Zugaben von Harnstoff noch verstärkt, wenn auch nicht in dem Maße wie bei der ersten. Doch bereits kurz nach der dritten Zugabe von 5 mg Harnstoff beginnt die Kontraktilität der Kammer besonders auf Kosten der Diastole wieder zuzunehmen. Es tritt zu diesem Zeitpunkt die quellungsfördernde und permeabilitätssteigernde Wirkung des bereits in das Muskelgewebe eingedrungenen Harnstoffanteils in den Vordergrund, wodurch die Verbesserung im Funktionszustand der Kammermuskulatur zu erklären ist. Daß eine Zunahme der Kontraktilität auch ohne Harnstoff spontan eingetreten wäre, ist mit Bestimmtheit auszuschließen; denn die Menge von 1 mg Chloralhydrat führt, wie uns andere Versuche gelehrt haben, unter Abnahme der Frequenz und Hubhöhe stets im Laufe mehrerer Stunden zum Herzstillstand. Aus der Abbildung geht hervor, daß zwar das Auftreten einer hochgradigen Bradycardie durch die Harnstoffzugabe nicht aufgehalten werden kann, ein Herzstillstand war in diesem Versuch jedoch nach 15 Stunden noch nicht eingetreten.

In einer Reihe weiterer Versuche wurde eine Anordnung benutzt, die gestattet, die Arbeitsleistung eines isoliert durchströmten Froschherzens direkt zu bestimmen. Die Versuchsanordnung ist bereits von uns[11] an anderer Stelle beschrieben worden. In Abb. 4 ist der Einfluß von Harnstoff auf das Minutenvolumen eines mit Normalringer durchströmten Herzens dargestellt. Aus dem Verlauf der Minutenvolumenkurve ist zu ersehen, daß

[11] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 214 (1937).

der jeweile Zusatz von Harnstoff in einer Konzentration von 0,5—1,5% eine erhebliche Zunahme des Minutenvolumens zur Folge hat. Aus Abb. 5 geht hervor, daß auch das durch Calciumentzug hypodynam gemachte Herz in seiner Leistungsfähigkeit durch Zugabe von Harnstoff in die Durchströmungsflüssigkeit günstig beeinflußt wird. Aus Abb. 6 ist zu ersehen, daß unter dem Einfluß von Narkotica das Minutenvolumen des isoliert durchströmten Herzens herabgesetzt wird und durch Harnstoff

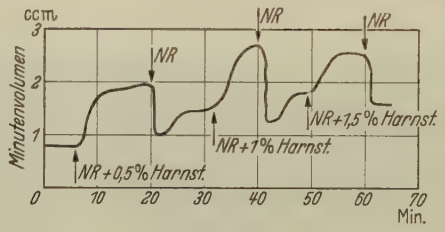


Abb. 4.

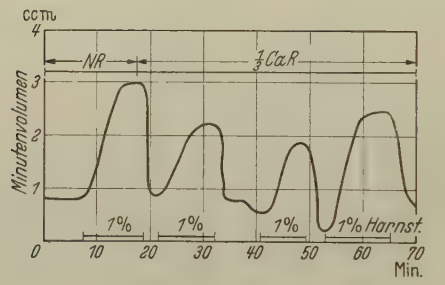


Abb. 5.

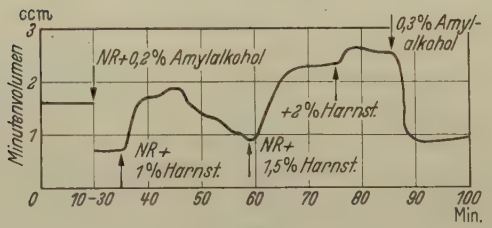


Abb. 6.

wieder zu verbesserter Tätigkeit angeregt werden kann. Es geht aus dieser Abbildung hervor, daß zwischen der Wirkung eines Narkoticums und der antagonistischen des Harnstoffs gewisse quantitative Beziehungen bestehen. Das durch Zusatz von 0,2% Amylalkohol zur Durchströmungsflüssigkeit herabgesetzte Minutenvolumen kann durch Zusätze von 1% bzw. 1,5% bzw. 2% Harnstoff entsprechend gesteigert werden. Setzt man aber die Narkoticumkonzentration von 0,2% auf 0,3% herauf, so genügt selbst die Konzentration von 2% Harnstoff in der Durchströmungs-

flüssigkeit nicht mehr, um die durch die Erhöhung der Narkoticumkonzentration hervorgerufene verstärkte Leistungsschädigung des Herzens zu kompensieren. Zwischen dem Einfluß anderer Narkotica (Chloralhydrat, Chloroform, Heptylalkohol) auf die Leistungsfähigkeit des isoliert durchströmten Herzens und ihre antagonistische Beeinflussung durch Harnstoff bestehen jedenfalls in qualitativer Hinsicht die gleichen Beziehungen, wie sie soeben für Amylalkohol mitgeteilt wurden.

Besprechung.

Die oben mitgeteilten Versuche haben also gezeigt, daß zwischen der Kontraktilität der Kammer des nach Straub isolierten Froschherzens und der Arbeitsleistung des isoliert durchströmten Froschherzens einerseits und dem jeweiligen physikalisch-chemischen Zustand des Herzmuskelgewebes andererseits ein ursächlicher Zusammenhang besteht. Einflüsse (Harnstoff), die den Quellungs- und Löslichkeitszustand der Muskelkolloide und damit die Permeabilität des Muskelgewebes erhöhen, verursachen eine Verbesserung im Funktionszustand des Herzens, die am Straubschen Präparat durch Bestimmung der Hubhöhe, am isoliert durchströmten Herzen durch Messung des Minutenvolumens quantitativ erfaßt werden kann. Äußere Einflüsse (Hypertonie der Ringerlösung durch NaCl-Zusatz, Narkotica) dagegen, die eine Entquellung, Löslichkeitsverminderung und Herabsetzung der normalen Permeabilität des Organs hervorrufen, verursachen eine Abnahme der Kammerkontraktilität bzw. des Minutenvolumens des Herzens. Der durch die letztgenannten Einflüsse in seiner Leistungsfähigkeit herabgesetzte Herzmuskel und ebenso das durch Calciumentzug in seiner ionalen Zusammensetzung veränderte Organgewebe wird durch Harnstoffzusätze zur Durchströmungsflüssigkeit in den Zustand erhöhter Leistungsfähigkeit versetzt. Zur Begründung und gleichzeitig zur Erklärung des ursächlichen Zusammenhangs zwischen Funktions- und Kolloidzustand des Herzmuskels lassen sich folgende Tatsachen anführen: Wie bereits erwähnt, hat Deuticke gezeigt, daß die Muskelarbeit mit einer Löslichkeitsverminderung der Muskeleiweißkörper einhergeht und die Erholung zu einer reversiblen Zunahme der Proteinlöslichkeit führt. Es ist daher nicht verwunderlich, daß Narkotica und dehydratisierende Einflüsse durch Verminderung des Löslichkeitsgrades der Muskelproteine das Muskelgewebe in einen kolloidchemischen Zustand versetzen, der dem hochgradiger physiologischer Ermüdung entspricht. Auf der anderen Seite dürfte die durch Harnstoff bewirkte Löslichkeitszunahme der Gewebsproteine dem Vorgang der Erholung, d. h. der zunehmenden Leistungsfähigkeit entsprechen. Der Ablauf der Muskelkontraktion ist begleitet von einer Reihe fermentativer Prozesse. Die katalytische Wirkung der Fermente ist mit großer Wahrscheinlichkeit bedingt durch die große Oberflächenentwicklung der kolloidal gelösten Fermente selbst bzw. der Fermentträger. Äußere Einflüsse, die durch Verminderung

des Dispersitätsgrades die wirksame Oberfläche des Fermentes herabsetzen, dürften dadurch eine Abnahme der Wirkungsstärke des Ferments hervorrufen. Äußere Einflüsse dagegen, die durch Löslichkeitssteigerung eine stärkere Dispergierung und somit größere Oberflächenentwicklung des kolloidalen Ferments bzw. Fermentträgers bewirken, werden die katalytische Wirkung des Ferments steigern können. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß ein rascherer und intensiverer Ablauf der Fermentreaktionen den Kontraktionsvorgang in förderndem Sinne, eine Hemmung und Verlangsamung der Fermentreaktionen den Kontraktionsvorgang in nachteiligem Sinne beeinflußt. Weiterhin ist sicherlich der Grad der Permeabilität für den Stoffaustausch zwischen der Zelle und ihrer Umgebung von großem Einfluß auf den Funktionszustand der einzelnen Zelle und somit des ganzen Organs. Eine gesteigerte Permeabilität führt zu einer besseren Aufnahme des in der oxybiotischen Phase der Muskelkontraktion benötigten Sauerstoffs und zum leichteren Abtransport von Stoffwechselschlacken. Schließlich kann heute als gesicherte Tatsache angesehen werden, daß der Erregungsvorgang von einer Permeabilitätssteigerung der Zellgrenzschicht begleitet ist. Einflüsse (Harnstoff), die durch Auflockerung und Permeabilitätssteigerung die Ansprechbarkeit der Kammermuskelzelle für den physiologischen Sinusreiz erhöhen, verursachen somit eine Erregbarkeitssteigerung, und umgekehrt wird durch Entquellung und Permeabilitätsverminderung der Zellgrenzschicht die zur Erregung zugehörige Auflockerung und Permeabilitätssteigerung erschwert. Es sind also nicht zuletzt die durch Harnstoff bzw. Narkotica hervorgerufenen Änderungen im physikalisch-chemischen Zustand und damit gleichzeitig einhergehenden Änderungen im Funktionszustand des Herzens Ursache und Folgen der Beeinflussung der Erregungsvorgänge durch eben diese Stoffe. Über die Beeinflussung der Erregungsvorgänge im Kaltblüterherzen durch Harnstoff und Narkotica werden wir an anderer Stelle eingehend berichten.

Zusammenfassung.

1. Der Funktionszustand des Froschherzens ist abhängig von dem jeweilig physikalisch-chemischen Zustand des Herzmuskelgewebes.

2. Harnstoff übt auf den physikalisch-chemischen und Funktionszustand des Herzens zweierlei Wirkung aus: a) in das Muskelgewebe eingedrungen bewirkt er dort eine Zunahme des Quellungsvermögens der Gewebskolloide und Permeabilitätssteigerung, die am funktionsgeschädigten Herzen eine Verbesserung von dessen Leistungsfähigkeit zur Folge haben; b) wird Harnstoff am Eindringen ins Muskelgewebe verhindert, z. B. durch Hypertonie der Nährflüssigkeit oder Narkotica, so wirkt er auf osmotischem Wege wasserentziehend, permeabilitätsvermindernd und bewirkt dadurch eine vorübergehende Verschlechterung im Funktionszustand des Herzens.

Aus dem Physiologischen Institut (Hallerianum) (Direktor: Prof. A. von Muralt) und der Medizinischen Universitätsklinik (Direktor: Prof. W. Frey) in Bern.

Über die Bestimmung der zirkulierenden Blutmenge beim Menschen.

Von

B. Steinmann.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. Oktober 1938.)

Die Bestimmung der zirkulierenden Blutmenge ist beim Menschen nur indirekt möglich. Sie wurde seit Jahren durch zahlreiche Methoden vorgenommen, die alle auf dem Prinzip beruhen, eine abgemessene Menge eines Fremdstoffes in das Blut einzuführen und nach gleichmäßiger Verteilung desselben im Blute dessen Gehalt im Hämoglobin (Hb) oder Plasma zu messen und daraus die zirkulierende Blutmenge zu berechnen. Eine Ausnahme von diesem Prinzip macht die plethysmographische Methode von Morawitz. Sie erfaßt jedoch nur die Blutmenge in einem bestimmten Körperteil.

Die Bestimmungsmethoden sind grundsätzlich zu trennen in solche, die durch Verteilung des eingeführten Stoffes im Hämoglobin die Gesamthämoglobinmenge, und solche, die durch Verteilung im Plasma die Gesamtplasmamenge bestimmen. Zur Bestimmung der Gesamthämoglobinmenge kommt praktisch nur das Kohlenoxydgas (CO) in Frage, dagegen sind zur Bestimmung der Plasmamenge zahlreiche Substanzen versucht worden. Es haben sich aber nur die Farbstoffmethoden eingebürgert, besonders mit Kongorot, Trypanrot, Trypanblau und neuerdings mit Evansblue T 1824 (Kodak) nach Millikan.

Die Gesamtblutmenge wird unter Annahme eines konstanten Verhältnisses Hb : Plasma bzw. Erythrocyten : Plasma in der ganzen Strombahn mit Hilfe der Hämoglobinometrie oder der Hämatokritmethode berechnet. Da der Hämatokritwert aus methodischen Gründen nur ungenau ermittelt werden kann, die Hb-Bestimmung dagegen namentlich mit neueren Methoden außerordentlich genau durchgeführt werden kann, ist das Verhältnis Hb : Plasma mit größerer Genauigkeit zu bestimmen als das Verhältnis Erythrocyten : Plasma. Die Anwendung der Hämoglobinometrie beschränkt sich aber nur auf die CO-Methode. Auf die Frage der Konstanz des Hb : Plasmaverhältnisses werden wir später zurückkommen.

Die CO-Methode ist zum erstenmal von Gréhant und Quinquaud 1882 beim Hund angewandt worden. Von Haldane und Smith, dann Douglas, Zuntz und Plesch u. a. wurde die Methode für die Anwendung

beim Menschen ausgearbeitet. Während sich diese Methode in der Physiologie ihren gesicherten Platz erringen konnte (namentlich in England durch Haldane und seine Schule), konnte sie sich mit wenigen Ausnahmen (Plesch, Eppinger und Mitarbeiter usw.) kaum Eingang in die Klinik verschaffen. Dagegen fanden in der Klinik die Farbstoffmethoden seit ihrer Einführung im Jahre 1915 durch Rowntree, Keith und Geragthy und nach weiteren Verbesserungen durch Griesbach, Seyderhelm und Lampe usw. eine allgemeine Verbreitung. Diese Beliebtheit hat ihren Grund vor allem in der Ungiftigkeit der gebrauchten Farbstoffe. Allerdings werden diese nur bei Beachtung gewisser Kautelen vom Organismus reaktionslos vertragen. Eine eingehende kritische, experimentell belegte vergleichende Untersuchung der verschiedenen Methoden wurde 1921 von Whipple und Mitarbeitern durchgeführt.

Die Ablehnung der CO-Methode wurde hauptsächlich durch folgende Argumente begründet:

1. Das CO ist ein Gift, das für den Menschen bei gewisser Dosierung, wenn nicht schon beim erstenmal, so doch bei wiederholter Einatmung von Schaden sein kann. Die CO-Bestimmungsmethoden sind nur dann genau genug, um einen einigermaßen exakten Wert für die zirkulierende Blutmenge ermitteln zu können, wenn eine relativ große CO-Menge eingeatmet wurde.

2. Wenn unter physiologischen Verhältnissen ein CO-Gehalt des Blutes von 20—25% ein- bis zweimal ohne Nachteil ertragen wird, so ist in der Klinik dieser CO-Gehalt für einen Großteil der Patienten (Anämie, kardiale Insuffizienz usw.) nicht mehr ertragbar.

3. Die Methode verlangt eine gewisse Mitbeteiligung der Versuchsperson während der Einatmung des CO.

4. a) Die Reinheit des einzuatmenden CO-Gases muß vor dem Versuch bestimmt werden.

b) Der im Atmungssystem zurückgebliebene CO-Rest muß ebenfalls bekannt sein.

c) Ein unbekannter Teil des eingeatmeten CO wird an das in der Muskulatur enthaltene Hb gebunden und wird dem Hb des Blutes entzogen, was einen zu niedrigen CO-Gehalt des Blutes und damit einen zu hohen Wert für die Blutmenge ergibt.

d) Es besteht die Möglichkeit einer Oxydation des CO in CO_2 im Organismus.

e) Ein Teil des CO geht in Lösung in der Gewebsflüssigkeit. Nach Haldane beträgt dieser ungefähr 0,3% und kann in der Berechnung vernachlässigt werden.

5. Über die gleichmäßige Durchmischung des Blutes mit dem CO fehlt noch jede sichere Kenntnis.

Wir möchten trotz dieser Gegenargumente den Wert der CO-Methode zur Bestimmung der zirkulierenden Blutmenge betonen, weil damit die

Menge des Hb, des wichtigsten Bestandteils des Blutes, erfaßt wird und die Gesamtblutmenge, wie schon betont, mit Hilfe der genauen Hämoglobinometrie ermittelt werden kann. Auf die verschiedenen Einwände werden wir im Laufe dieser Arbeit hauptsächlich auf Grund unserer eigenen Untersuchungen eingehen.

Aus den erwähnten Einwänden geht deutlich hervor, daß vor allem eine Methode gefordert wird, die eine möglichst exakte und doch möglichst wenig zeitraubende Messung des prozentualen CO-Hb's im Blut ermöglicht. Denn damit wäre es möglich, eine genügend exakte Bestimmung der zirkulierenden Blutmenge durchzuführen bei Anwendung kleiner, auch bei mehrmaligem Gebrauch harmloser Mengen von CO.

Die bis dahin benutzten CO-Hb-Bestimmungsmethoden arbeiteten fast alle mit einer relativ großen Fehlerbreite und meist auch mit großem Zeitaufwand. Die Karmintitration nach Haldane, die gasanalytischen Verfahren nach Zuntz und Plesch und van Slyke, die spektrophotometrische Bestimmung nach Hüfner, Heilmeyer und die Messung im Reversionsspektroskop nach Harttridge kommen bestenfalls auf einen Fehler von $\pm$ 2%. Einzig van Slyke und Mitarbeiter kamen durch dauernde Verbesserung der gasanalytischen CO-Bestimmung unter Beachtung aller Kautelen auf eine Genauigkeit von $\pm$ $^1/_4$—$^1/_2$ % (0,02—0,03 Vol.%). Mit Hilfe dieser Methode haben Eppinger und Mitarbeiter (einer der wenigen klinischen Benutzer des CO-Verfahrens) ihre Bestimmungen ausgeführt. Die Bestimmungsdauer bei diesem Verfahren ist aber immer noch so lang, daß nicht innerhalb kurzer Zeit mehrere Bestimmungen nacheinander ausgeführt werden können.

Ein den obigen Forderungen Genüge leistendes Verfahren fand sich in einer von v. Muralt und Hartmann am Deutschen Physiologenkongreß 1936 demonstrierten und von Hartmann theoretisch und praktisch gründlich fundierten lichtelektrischen Methode, mit der die prozentische CO-Hb-Bestimmung des Blutes in kleinsten Blutmengen in kurzer Zeit mit einem Fehler der Einzelbestimmung von $\pm$ 0,5% durchzuführen ist. Diese Eigenschaften der Methodik haben es uns ermöglicht, die Frage der Blutmengenbestimmung mit der CO-Methode in der Klinik wieder aufzunehmen und zu einer leicht zu handhabenden, wenig zeitraubenden klinischen Methode auszuarbeiten. Die im Wesen der Methode liegende Möglichkeit von Reihenuntersuchungen mit Hilfe kleinster Blutmengen (25 cmm) ermöglichte es, das Problem der Verteilung des CO im Körper auf eine neue Art anzugehen und namentlich die Durchmischung in liegender und sitzender Position zu untersuchen. Da in derselben Blutprobe auch der Hb-Gehalt des Blutes mit einem Fehler von etwa $\pm$ $^1/_3$% bestimmt werden kann, so konnte auch das umstrittene Problem der Konstanz des Hb-Plasmaverhältnisses angegangen werden. Auf die absolute Größe der zirkulierenden Blutmenge haben wir in dieser Arbeit weniger Wert gelegt.

Methodik.

1. Das Prinzip der CO-Hb-Bestimmung.

Die theoretischen Grundlagen der Differenzphotometrie und die Entwicklung des Differenzphotometers sind von Hartmann ausführlich beschrieben worden; es soll hier nicht darauf eingegangen werden. Wir möchten hier nur soweit auf das Prinzip der Methode eingehen, als es für das Verständnis der nach Hartmann gebauten, in der Ausführung jedoch etwas abweichenden Apparatur notwendig ist.

Prinzip der Methode von Hartmann. Zur photometrischen Bestimmung des prozentualen Anteils von O_2-Hb und CO-Hb in einer Blutprobe sind zwei bei verschiedenen Wellenlängen ausgeführte Messungen notwendig (Hüfner, Heilmeyer und Krebs). Bei der Auswahl der dazu geeigneten Spektrallinien ergab sich mit Hilfe einer von Hartmann ausgeführten Differenzabsorptionskurve einer mit O_2 gesättigten Hb-Lösung gegen eine mit CO gesättigte Hb-Lösung, daß die Absorptionen der beiden Lösungen bei 546 mμ fast übereinstimmen, während sie bei 579 mμ stark differieren. Außerdem liegen in diesen Bereichen gerade Kurvenwendepunkte. Diese beiden Punkte des Spektrums entsprechen nun zufälligerweise der grünen (546 mμ) und der gelben (577/579 mμ) Hg-Linie, die durch geeignete Filter sehr rein ausgeblendet werden können. Bei der grünen Hg-Linie kann daher unabhängig vom CO-Gehalt des Blutes die Gesamt-Hb-Konzentration und bei der gelben Linie der prozentuale CO-Hb-Anteil des Gesamt-Hb gemessen werden. Es ist daher möglich, ohne Hämatokritwert in einer Blutprobe den Hb-Gehalt des Blutes und die prozentuale CO-Beimengung des Hb zu ermitteln und daraus die zirkulierende Blutmenge zu berechnen.

2. Meßanordnung und Apparatur.

Die Methode ist ein lichtelektrisches Differenzverfahren mit zwei Vakuumphotozellen in Kompensationsschaltung. Das Licht einer Quecksilberlampe fällt in symmetrischer Weise durch die zur reinen Ausblendung der Hg-Linien notwendigen Glasfilter und Blenden auf zwei Vakuumphotozellen, die in Kompen-

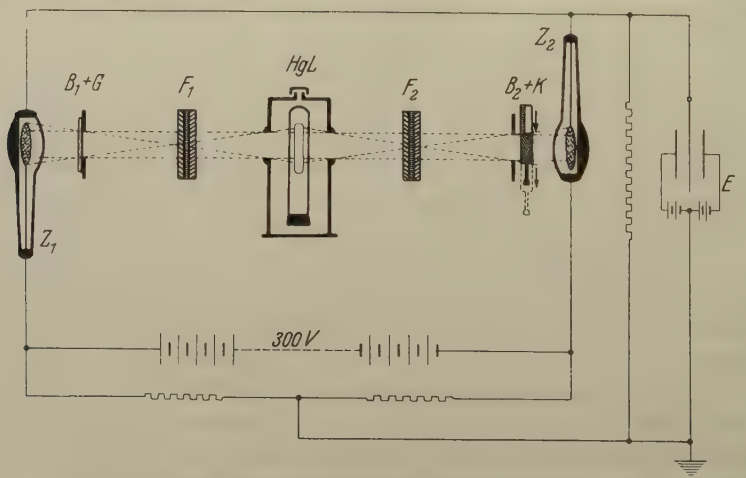


Abb. 1. Meßanordnung (schematisch). Nach Hartmann.

sationsschaltung gegeneinander im Stromkreis liegen. Die Gesamtschaltung ist eine Brückenschaltung, in der zwei Widerstände durch Photozellen ersetzt sind. Im Nullzweig liegt das Elektrometer, das nur die Differenz der Photoströme zwischen linker und rechter Seite anzeigt. Zur Stabilisierung ist es durch einen Widerstand überbrückt. Näheres über die Hg-Spektrallampe (Osram), Vakuumphotozellen (Pressler), Kuvettenschieberanordnung, den elektrischen Schaltplan der Apparatur und des Elektrometers (Lindemann und Keeley) ist bei Hartmann nachzusehen.

Um den Mischlichtfehler vollkommen auszuschließen, legte Hartmann besonderen Wert auf eine genaue Ausfilterung der beiden Hg-Linien (546 und 577/579 mμ). Denn es hatte sich herausgestellt, daß die für viele Zwecke ausreichenden Zeissfilter *A* und *B* den hier gestellten Anforderungen nicht genügten. Hartmann konnte nach eingehenden spektrographischen Untersuchungen auf Reinheit der Quecksilberlinien folgende beste Filterkombinationen aufstellen: Zur Ausblendung der:

a) gelben Linie: Zeiss Filter A + 1 mm dickes Filter BG 7 (Schott & Gen., Jena);

b) grünen Linie: 5 mm Neophanglas 58/51 (Auergesellschaft Berlin) + 2,5 mm BG 7 + 1 mm OG 1 (Schott & Gen., Jena).

Unsere nach obiger Methode gebaute Apparatur weicht in der Konstruktion von der Hartmannschen Original-Apparatur ab (Abb. 2 und 3). Der ganze optische

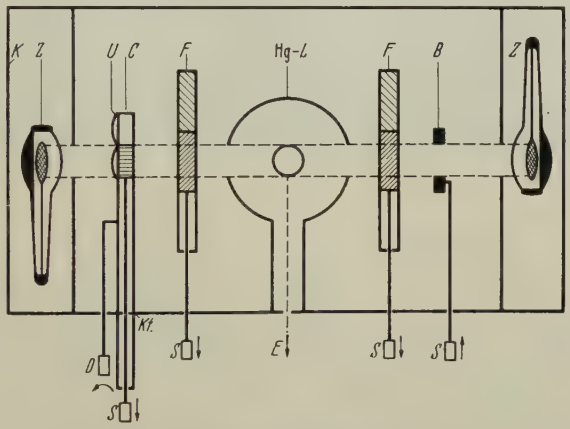


Abb. 2. Schematische Darstellung der Einrichtung unserer Apparatur.
K = Messingkasten,
Z = Photozellen,
U = Umbralfilter,
C = Kuvetten,
F = Filter,
Hg-*L* = Hg-Lampe,
B = Irisblende,
D = Drehhebel der Anstoßvorrichtung für den Küvettenschieber,
Kt = Klapptüre,
S = Schieberhebel für Küvettenschieber, Filter und Irisblende,
E = Elektrometer.

Teil der Apparatur wurde in einem lichtdicht geschlossenen Messingkasten eingebaut, der in der Mitte eine zylindrische Öffnung besitzt. Der Kasten wird auf dem Stativ der Hg-Lampe befestigt, so daß diese in die zylindrische Öffnung hineinragt und durch Blenden und Filter hindurch die beiden längs der kürzeren Seitenwände des Kastens eingebauten Photozellen symmetrisch beleuchtet. Die Lampe beleuchtet ebenfalls die Skala des Elektrometers, so daß eine spezielle Beleuchtung desselben dahinfällt.

Das Auswechseln der Filter, die Bedienung der Iris-Blende einerseits und der Kuvettenschieber andererseits kann durch einfaches Hin- und Herschieben mit Hilfe von aus dem Kasten herausragenden Hebeln geschehen. Der Kuvettenschieber kann durch eine kleine Klapptür auf der Laufschiene aus dem Kasten herausgezogen werden zum Einsetzen bzw. Wegnehmen der mit der Hb-Lösung gefüllten Kuvette und der Umbralfilter.

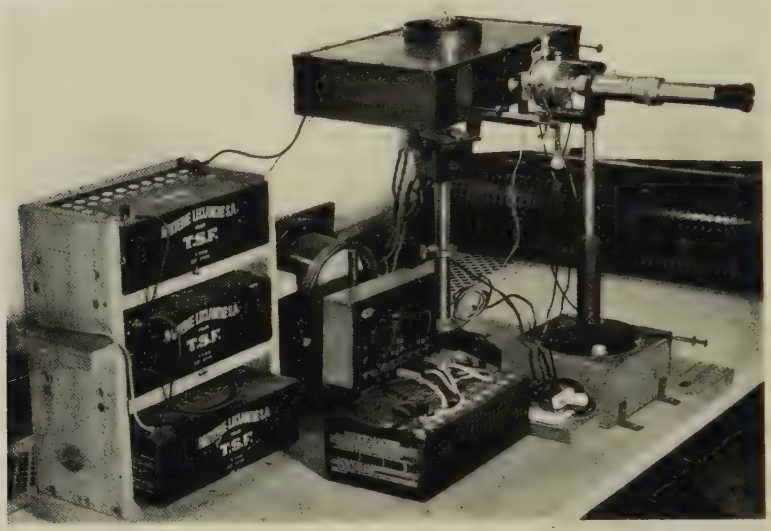


Abb. 3.

3. Bestimmung des CO-Hb im Blute.

Wie aus dem oben erläuterten Prinzip der Methode hervorgeht, wird der prozentuale Anteil des CO-Hb in einem Gemisch von O_2Hb und CO-Hb aus dem Quotienten der bei zwei verschiedenen Wellenlängen gemessenen Extinktionen, in unserem Falle bei 546 und 577/579 mμ, berechnet nach der Hüfnerschen Formel:

$$P_x = \frac{100\left(\frac{1}{B} - \frac{E_1}{E_2}\cdot\frac{1}{b}\right)}{\left(\frac{E_1}{E_2}\cdot\frac{1}{a} - \frac{1}{A}\right) + \left(\frac{1}{B} - \frac{E_1}{E_2}\cdot\frac{1}{b}\right)},$$

wo P_x der prozentuale CO-Gehalt des Hb, E_1/E_2 den Quotienten aus den Extinktionen bei $\lambda = 546$ mμ bzw. $\lambda = 577/579$ mμ, A und a die Absorptionsverhältnisse des einen Farbstoffs (O_2-Hb) und B und b diejenigen des anderen Farbstoffs (CO-Hb) bei den beiden Wellenlängen bedeuten.

Aus zahlreichen Bestimmungen ergab sich für den Quotienten $Q_{O_2\text{-Hb}}$ der Wert 0,914 und für Q_{CO-Hb} 1,355. Für A (O_2-Hb, 546) setzten wir nach neueren Angaben von Heilmeyer und Sundermann 0,00128, für A (O_2-Hb, 577/579) ergab sich dann aus Q_{O_2-Hb} ein Wert von 0,00117,

der nur wenig von dem von Heilmeyer angegebenen (0,001162) abweicht. Für B (CO-Hb, 546) erhielten wir 0,00134 und für b (CO-Hb, 577/579) 0,00182. Hartmann gibt für Q_{O_2-Hb} einen Wert von 0,9458 und für Q_{CO-Hb} einen solchen von 1,401 an. Berechnet man aus diesen Quotienten den prozentualen CO-Hb-Gehalt von $0-100\,\%$, so erhält man eine Kurve (Abb. 4), die derjenigen von Hartmann parallel verschoben ist.

Der Grund dieser Verschiedenheit der beiden Kurven kann, obschon wir dieselben Filterkombinationen wie Hartmann benutzen, in einer etwas anderen Ausfilterung der Hg-Linien beruhen und sich so unter dem Einfluß eines gewissen Mischlichtfehlers auf die Werte des Quotienten $\frac{E_{546}}{E_{577/579}}$ auswirken. Dieser Mischlichtfehler kann möglicherweise noch deutlicher zum Ausdruck kommen, wenn die Lichtintensität der einzelnen Hg-Linien bei verschiedenen Hg-Lampen im Verhältnis zueinander differieren. Auf jeden Fall stellt sich die Forderung, für jede neue Filterkombination eine spezielle Eichkurve aufzunehmen.

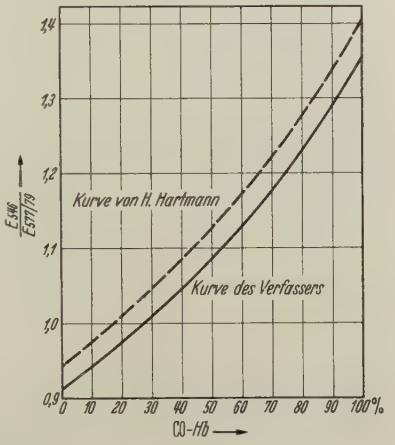


Abb. 4. Kurve des Quotienten $\frac{E_{546}}{E_{577/79}}$ zur Bestimmung des prozentualen CO-Hb-Gehaltes in einem Gemisch von CO-Hb und O_2-Hb.

Zur Bestimmung der für die CO-Hb-Gehaltsberechnung notwendigen Extinktionen der zu untersuchenden Blutlösung bei λ 546 und 577/579 mμ ist nach dem Beer-Lambertschen Gesetz die Kenntnis der einfallenden (J_0) und der ausfallenden (J_1) Lichtintensität notwendig. Da nun infolge der großen Empfindlichkeit der Methode die Bestimmung von J_0 nur mühsam mit Zwischenstufen zu erreichen wäre, wenn nicht die Empfindlichkeit darunter leiden sollte, wurde von Hartmann ein Verfahren ausgearbeitet, das an Stelle von J_0 die Differenz der Lichtintensität nach Passieren zweier Zeissscher Umbralfilter mißt, deren Extinktionen sehr genau bekannt sind. Mit Hilfe von Differenzlogarithmen wird die Extinktion der Blutlösung berechnet. Die Werte für die Extinktionen der von uns benutzten Umbralfilter sind in Tabelle 1.

Tabelle 1. Extinktion der Umbralfilter bei 546 und 577/579 mμ.

	Umbralfilter I	Umbralfilter II
E_{546}	0,4083	0,7431
$E_{577/579}$	0,3554	0,6469
Entspricht einer Hb-Konzentration in Verdünnung 1:100 von	10,35 g%	18,84 g%

Praktisch führten wir die Bestimmung des CO-Hb-Gehalts des Blutes auf folgende Weise aus: Man entnimmt der Versuchsperson nach Einstich in das Ohrläppchen usw. 25 cmm Blut und mischt es mit 2475 cmm der Verdünnungslösung im Verhältnis 1 : 100. Als Verdünnungslösung benutzten wir in Anlehnung an die Kramerschen Angaben eine Lösung von 0,4% NH_3 und 0,1% Saponin Merck. Mit dieser Lösung erhält man außerordentlich klare Blutlösungen, ohne daß die Sättigung des Hb mit O_2 oder CO irgendwie beeinträchtigt wird. Zur Oxydation des im Blut neben CO-Hb und O_2-Hb noch vorhandenen reduzierten Hb genügt der in der Verdünnungslösung gelöste Sauerstoff, wie zahlreiche Kontrollversuche gezeigt haben. Die Messung im Photometer geschieht in einer 5,05 mm dicken Küvette. Sie wird nacheinander bei der grünen und gelben Hg-Linie ausgeführt, beide Male in folgender Reihenfolge:

1. Messung der Differenz der Lichtdurchlässigkeit zwischen Umbralfilter I und Umbralfilter II (drei Messungen nacheinander): $J_{I_1} - J_{II_1}$.

2. Messung der Differenz der Lichtdurchlässigkeit zwischen Umbralfilter I und der Küvette mit der 1 : 100 verdünnten Blutlösung, nach Auswechseln derselben mit dem Umbralfilter II (je drei Messungen): $J_I - J_{Cu\,+\,Hb}$.

3. Wiederholung der Messung 1: $J_{I_1} - J_{II_2}$. Aus den gemessenen Werten wird die Extinktion der Hb-Lösung mit Hilfe von Differenzlogarithmen berechnet:

1. Aus Messung 1: $J_{I_1} - J_{II_1} = a_1$,
„ „ 3: $J_{I_2} - J_{II_2} = a_2$.

$$\frac{\log a_1 + \log a_2}{2} = \log a = \log (J_I - J_{II}).$$

2. $\log J_I - \log J_{II} = \varepsilon_{II} - \varepsilon_I = A$, wobei ε_I und ε_{II}, die Extinktionen der Umbralfilter I und II, bekannt sind.

3. Nach den Differenzlogarithmen ist

$$\log (J_I - J_{II}) = \log J_I + C,$$

wobei C bei Kenntnis von A aus der Logarithmentabelle entnommen wird.

$$\log J_I = \log (J_I - J_{II}) - C.$$

4. $\log (J_I - J_{Cu\,+\,Hb}) - \log J_I = C'$.

5. $\log J_I - \log J_{Ca\,+\,Hb} = \varepsilon_{Cu\,+\,Hb} - \varepsilon_I = A'$, wobei A' mit Hilfe von C' aus der Logarithmentabelle entnommen wird.

6. $\varepsilon_{Cu\,+\,Hb} = A' + \varepsilon_I$, $\varepsilon_{Hb} = \varepsilon_{Cu\,+\,Hb} - \varepsilon_{Cu}$, wobei ε_{Cu}, die Extinktion der Küvette mit Verdünnungslösung, 0,0176 beträgt.

Da man eigentlich zur Ermittlung der Extinktion des Hb (ε_{Hb}) vom Wert der Extinktion der Küvette mit Verdünnungslösung und der untersuchten Blutprobe (25 cmm) ($\varepsilon_{Cu\,+\,Hb}$) nicht nur die Extinktion der Küvette mit Verdünnungslösung (ε_{Cu}), sondern auch die der in der untersuchten Blutmenge enthaltenen Plasmamenge (etwa 15 cmm) abziehen sollte, wurden Bestimmungen der Extinktion der Küvette einerseits gefüllt mit Verdünnungslösung allein und andererseits mit Verdünnungslösung und 15 cmm Plasma durchgeführt. Es ergab sich aber kein meßbarer Unterschied.

Die oben erwähnten Messungen und die damit angestellten Berechnungen müssen bei beiden Wellenlängen durchgeführt werden, um den Quotienten $E_{546}/E_{577/579}$ zu bilden, woraus nach der Hüfnerschen Formel die CO-Hb-Konzentration ermittelt wird.

Tabelle 2. $\frac{E_{546}}{E_{577/579}}$ für CO-Hb 0—100%.

$Q = \frac{E_{546}}{E_{577/579}}$	CO-Hb %	O_2-Hb %	$Q = \frac{E_{546}}{E_{577/579}}$	CO-Hb %	O_2-Hb %
0,914	0	100	1,131	60	40
0,943	10	90	1,178	70	30
0,976	20	80	1,231	80	20
1,009	30	70	1,290	90	10
1,046	40	60	1,355	100	0
1,086	50	50			

In Tabelle 2 finden sich die CO-Hb Konzentrationen von 10—100% mit den entsprechenden Quotienten.

In Tabelle 3 finden sich die Quotienten $E_{546}/E_{577\,579}$ von 0,914—1,000 mit den entsprechenden CO-Hb-Prozenten. Dieser Bereich genügt bei der Anwendung der Methode zur Bestimmung der zirkulierenden Blutmenge Die korrigierten Werte für die CO-Hb-Konzentration berücksichtigen auch die in der Blutlösung physikalisch gelöste CO-Menge. Ihre Berechnung wurde nach Angaben von Douglas und Haldane durchgeführt.

Die Bestimmung des Hb-Gehalts wird mit Hilfe der Extinktion der Blutlösung bei $\lambda = 546\ m\mu$ ausgeführt. Da unsere Küvette eine Schichtdicke von 5,05 mm hat, die Verdünnung des Blutes 1 : 100 beträgt, die Berechnung auf Gramm-Hb pro 100 ccm durchgeführt wird und wenn wir für das Absorptionsverhältnis mit Heilmeyer und Krebs einen Wert von 0,00128 annehmen, so erhalten wir folgende Gleichung:

$$\text{Hb g pro 100 ccm Blut} = \frac{\varepsilon_{546} \cdot 0{,}00128 \cdot 100000}{5{,}05} = \varepsilon_{546} \cdot 25{,}35.$$

4. Die Bestimmung der zirkulierenden Blutmenge.

Die Bestimmung der zirkulierenden Blutmenge zerfällt in drei Abschnitte.

a) Bestimmung des CO-Hb-Gehalts vor der CO-Inhalation: Es ist unerläßlich, wie auch Hartmann betont, vor dem eigentlichen Versuch den CO-Hb-Gehalt des Blutes zu messen, da gerade bei Anwendung kleiner CO-Gasmengen eine CO-Beimengung des Blutes vor dem Versuch das Resultat stark trüben kann. Es war bei unseren Versuchspersonen sehr selten der Fall, daß das Blut vollkommen frei von CO-Beimengungen war. Im allgemeinen konnten wir CO-Hb-Beimischungen von 0—5% feststellen. Die Luft in Laboratorien und Gebäuden, in denen Gasbrenner benutzt werden, enthält ja nachweislich stets kleine CO-Beimischungen. Auch die freie Luft in größeren Städten ist selten CO-frei. Größere CO-Hb-Konzentrationen konnten wir bei Rauchern feststellen, wenn sie am Abend vor dem Versuch noch geraucht hatten.

Tabelle 3. Werte für die dem Quotienten $\frac{E_{546}}{E_{577/579}}$ 0,914—1,000 entsprechenden CO-Hb%, unkorrigiert und korrigiert nach Haldane und Douglas.

$Q = \frac{E_{546}}{E_{577/579}}$	CO-Hb %	CO-Hb % korrigiert	$Q = \frac{E_{546}}{E_{577/579}}$	CO-Hb %	CO-Hb % korrigiert
0,914	0	0	0,957	14,3	14,4
0,915	0,4	0,4	0,958	14,6	14,7
0,916	0,75	0,75	0,959	14,9	15,0
0,917	1,1	1,1	0,960	15,2	15,3
0,918	1,45	1,45	0,961	15,5	15,6
0,919	1,8	1,8	0,962	15,8	15,9
0,920	2,2	2,2	0,963	16,1	16,2
0,921	2,6	2,6	0,964	16,4	16,5
0,922	2,9	2,9	0,965	16,7	16,8
0,923	3,3	3,3	0,966	17,0	17,2
0,924	3,6	3,6	0,967	17,3	17,5
0,925	3,9	3,9	0,968	17,6	17,8
0,926	4,2	4,2	0,969	17,9	18,0
0,927	4,6	4,6	0,970	18,2	18,4
0,928	4,9	4,9	0,971	18,5	18,7
0,929	5,2	5,2	0,972	18,8	19,0
0,930	5,6	5,6	0,973	19,1	19,3
0,931	5,9	5,9	0,974	19,4	19,6
0,932	6,3	6,3	0,975	19,7	19,9
0,933	6,6	6,7	0,976	20,0	20,2
0,934	7,0	7,1	0,977	20,3	20,5
0,935	7,3	7,4	0,978	20,6	20,8
0,936	7,6	7,7	0,979	20,9	21,1
0,937	8,0	8,1	0,980	21,2	21,4
0,938	8,3	8,4	0,981	21,5	21,7
0,939	8,6	8,7	0,982	21,8	22,0
0,940	9,0	9,1	0,983	22,1	22,3
0,941	9,3	9,4	0,984	22,4	22,6
0,942	9,6	9,7	0,985	22,7	22,9
0,943	10,0	10,1	0,086	23,0	23,2
0,944	10,3	10,4	0,987	23,3	23,5
0,945	10,6	10,7	0,988	23,6	23,8
0,946	11,0	11,1	0,989	23,9	24,1
0,947	11,3	11,4	0,990	24,2	24,4
0,948	11,6	11,7	0,991	24,5	24,7
0,949	11,9	12,0	0,992	24,8	25,0
0,950	12,2	12,3	0,993	25,1	25,3
0,951	12,5	12,6	0,994	25,4	24,6
0,952	12,8	12,9	0,995	25,7	24,9
0,953	13,1	13,2	0,996	26,0	26,2
0,954	13,4	13,5	0,997	26,3	26,5
0,955	13,7	13,8	0,998	26,6	26,8
0,956	14,0	14,1	0,999	26,9	27,1
			1,000	27,2	27,4

b) Die Inhalation des Kohlenoxyds und seine Verteilung im Blute: Zur Inhalation des CO benutzten wir analog zu Zuntz und Plesch, Schürmeyer, Schönholz usw. ein geschlossenes Rebreathing-System, jedoch ohne Atmungsventile wie Haldane, um einen möglichst kleinen

Totraum zu erhalten, bestehend aus Mundstück, Glasrohr mit dünnem seitlichem Zufuhrrohr für das CO, $^3/_4$-Liter-Flasche mit Natronkalk, 2 Liter Drägergummisack mit seitlichem Zufuhrrohr für den Sauerstoff. Das ganze Atmungssystem kann entweder vor die sitzende Versuchsperson aufgestellt oder bei liegender Versuchsperson an einer Stütze aufgehängt werden. Das CO wurde uns in einer Bombe geliefert und hat eine Reinheit von 97 -98%. Da die Konzentration des CO, das sich unter 150 Atm. Druck befindet, sich auch über längere Zeit nicht verändert, erübrigt sich eine regelmäßige Konzentrationsbestimmung vor jedem Versuch. Dies bedeutet eine erhebliche Vereinfachung der Methode. Das CO wird, analog zu den Angaben von Zuntz und Plesch während 3 Minuten mit konstanter Geschwindigkeit aus einem Glaszylinder, wohin es vor dem Versuch aus der CO-Bombe hinübergeleitet wurde, in das Atmungssystem eingeführt. Sauerstoff wird nach Bedarf zugegeben. Nach der CO-Inhalation wird noch etwa 6 Minuten mit O_2 nachgeatmet, um eine gleichmäßige Durchmischung des Blutes mit dem Gas zu erreichen. Wegen der etwa 200mal größeren Affinität des CO zum Hb gegenüber dem Sauerstoff wird fast die gesamte CO-Menge aus dem Atmungssystem aufgenommen. Immerhin bleibt eine kleine Menge CO zurück. Haldane und Smith fanden einen Wert von weniger als 0,05% CO im Respirationssystem bei Sättigung des Hb bis zu $^1/_4$—$^1/_3$ mit CO und vernachlässigten diese Größe in der Berechnung der Blutmenge, Douglas von 0,01—0,05% CO. Arnold, Carrier, Smith und Whipple fanden einen Wert von etwa 2 ccm CO nach der Atmung. In unseren Versuchen schätzten wir die zurückgebliebene CO-Menge auf 1—2% des gegebenen CO-Volumens.

c) Bestimmung des CO-Hb-Gehalts nach der CO-Inhalation nach Blutentnahme an der Stelle der Wahl. Die Berechnung der Blutmenge geschieht nach der Formel

$$V = \frac{c \cdot 10}{1{,}34 \cdot a \cdot p},$$

wo V die zirkulierende Blutmenge, c das auf $t = 0^0$ und $p = 760$ mm reduzierte eingeatmete CO-Volumen, a den Hb-Gehalt in g%, p die prozentuale Sättigung des Hb mit CO und 1,34 nach Hüfner, bestätigt von Heilmeyer, die Anzahl ccm CO oder O_2 bedeutet, die von 1 g Hb bei vollständiger Sättigung gebunden werden. Das gegebene CO-Volumen wird vor der Berechnung um 4% reduziert, wovon 2—3% auf Verunreinigungen des in der Bombe enthaltenen CO und 1—2% auf die nach der Inhalation im Respirationssystem zurückgebliebene CO-Menge entfallen. Es ist natürlich nicht ausgeschlossen, daß der an der gegebenen CO-Menge gemachte Abzug von 4% nicht völlig den Tatsachen entspricht. Der dabei entstehende Fehler ist jedoch äußerst gering und wird durch die dadurch bewirkte Vereinfachung der Methode gerechtfertigt.

5. Meßgenauigkeit.

Die von Cherbuliez, Hüfner u. a. vorgenommenen spektrophotometrischen CO-Hb-Bestimmungen wurden in neuerer Zeit von Heilmeyer und Krebs ausgebaut. Letztere kamen auf eine Meßgenauigkeit, die erlaubt, 3% CO-Hb noch sicher zu erfassen. Während diese Genauigkeit für die meisten biologischen Vorgänge genügt, liegt gerade der Kernpunkt der Blutmengenbestimmung mit der CO-Methode in einer möglichst genauen CO-Hb-Bestimmung.

Hartmann erreichte eine maximale Schwankungsbreite für die Hb-Bestimmung von 0,5% bei fünf Einzelablesungen, und für die Bestimmung des Quotienten $E_{546}/E_{577\,579}$ und demnach auch für den CO-Gehalt des Hämoglobins eine Fehlerbreite von $\pm$ 0,5%.

Wir fanden bei 4 Einzelbestimmungen des Hb desselben Blutes mit derselben Pipette bei je drei Ablesungen eine Fehlerbreite von $\pm$ 0,3 bis $\pm$ 0,5%. Beim Gebrauch verschiedener Pipetten erhielten wir Werte, die weit außerhalb dieses Fehlerbereiches lagen. Der Fehler beim Gebrauch verschiedener Pipetten ist relativ sehr groß und namentlich abhängig von der Form der Pipettenspitze, da nach Eintauchen der Pipette in den aufzusaugenden Blutstropfen stets etwas Blut an der Außenseite der Pipette anhaftet, das sehr rasch eintrocknet und nur bei geeigneter Spitzenform genügend rasch und vollkommen entfernt werden kann. Am geeignetsten hierfür ist die vorne schmal zulaufende Pipette nach Bürker.

Der bei der CO-Hb-Konzentrationsbestimmung gemachte absolute Fehler beträgt bei der von uns angewandten Methode $\pm$ 0,5% CO-Hb und ist bei allen CO-Hb-Konzentrationen annähernd konstant. Der prozentual zur Menge des im Blute enthaltenen CO-Hb gemachte Fehler wird dagegen kleiner, je größer die CO-Hb-Konzentration ist, d. h. je mehr CO eingeatmet wurde. Bei einem CO-Hb-Gehalt von 10% z. B. macht ein absoluter Meßfehler von $\pm$ 0,5% CO-Hb $^1/_{20}$ und bei einem CO-Hb-Gehalt von 20% $^1/_{40}$ desselben aus, die Blutmenge kann somit im ersten Falle mit einer Genauigkeit von $\pm$ 5% und im zweiten Falle von $\pm$ 2,5% bestimmt werden, wenn man die bei der Abmessung und Inhalation des CO-Gases gemachten Fehler außer acht läßt. Der Wert der hier benutzten Methode liegt nun gerade darin, daß durch eine sehr genaue CO-Hb-Bestimmung die zu inhalierende CO-Menge auf ein ungefährliches Maß reduziert werden kann.

Hartmann betont, daß durch dieses differenzphotometrische Verfahren Schwankungen in der Lichtstärke der Hg-Lampe, wenn sie nicht allzu groß sind, keinen Einfluß auf die Genauigkeit der Methode haben. Leider wurden wir in dieser Hinsicht sehr enttäuscht. Schon geringe Schwankungen der Lichtstärke, namentlich wenn sie rasch erfolgen, bewirken eine enorme Zunahme des Meßfehlers. Da nun unsere Stromquelle durch Anschluß zahlreicher anderer physikalischer und technischer Appara-

turen sehr große Schwankungen aufweist, wurde uns ein genaues Messen erst ermöglicht, als wir zwischen Stromquelle und Quecksilberlampe einen Spannungsregler (Firma Raytheon, Waltham, Mass. U. S. A.) einschalteten. Dadurch erhielten wir in äußerst befriedigender Weise einen konstanten Strom zur Speisung der Hg-Lampe.

Experimentelles und Diskussion.

Nach Besprechung der angewendeten Methode möchten wir nun auf die gegen die Anwendung der CO-Methode als klinisches Verfahren zur Bestimmung der zirkulierenden Blutmenge eingangs angeführten Argumente eingehen und mit Hilfe unserer Untersuchungsergebnisse eine Klärung der strittigen Punkte versuchen.

Wie schon früher betont wurde, liegt der Schwerpunkt der Ablehnung dieses Verfahrens in der relativ großen Fehlerbreite der bisher angewendeten CO-Hb-Bestimmungsmethoden, die für eine mit genügender Exaktheit ausgeführte Blutmengenbestimmung eine hohe Dosierung des einzuatmenden CO nötig machten. Mit Anwendung der lichtelektrischen Methode zur CO-Hb-Bestimmung von Hartmann fällt dieses Argument dahin. Die Genauigkeit ist derart, daß die zu inhalierende CO-Menge auf die Hälfte bis auf ein Viertel reduziert werden kann. Die wiederholte Anwendung der Methode an verschiedenen Tagen, eventuell auch am gleichen Tag, kann demzufolge ebenfalls ohne Bedenken ausgeführt werden. Nach Killick scheint bei wiederholter CO-Atmung nicht eine Überempfindlichkeit gegen das CO aufzutreten (B. Benatt), sondern sich im Gegenteil eine gewisse Gewöhnung einzustellen. Die geringen CO-Mengen ermöglichen es weiterhin, die Methode bei anämischen und kardialen Kranken anzuwenden — selbstverständlich in vernünftigem Rahmen —, wie es übrigens schon von Plesch, Eppinger u. a. getan worden ist.

Die Anforderungen an die Mitwirkung der Versuchsperson am Atmungssystem sind so gering, daß wir in keinem der bis dahin untersuchten Fälle, selbst nicht bei Kindern, auf Schwierigkeiten gestoßen sind. Die Kenntnis des prozentualen CO-Gehalts in der Bombe erübrigen eine Bestimmung vor dem Versuch. Der nach der CO-Inhalation im Atmungssystem zurückgebliebene CO-Rest kann nach Meinung der meisten Autoren mit genügender Genauigkeit geschätzt werden, ohne daß ein in Betracht fallender methodischer Fehler entsteht (s. S. 247).

Das CO bindet sich nicht nur an das Hb des Blutes, sondern auch an dasjenige des Muskels. Nach Gscheidlein beträgt der an das Myoglobin gebundene Anteil des CO etwa 5% der Gesamtmenge. Auch nach Arnold, Carrier, Smith und Whipple macht das zirkulierende Hb etwa 90—95% der CO-bindenden Pigmentsubstanzen aus. Später fand Whipple beim Hund sehr wechselnde Mengen des extravasalen Hb. Daß dieser unvermeidliche, nicht zu bestimmende Fehler der Methode keinen erheblichen Fehler

ausmacht, beweist die Tatsache, daß mit der CO-Methode immer eher geringere Blutmengen ermittelt wurden als mit den Farbstoffmethoden. Denn das an Myoglobin gebundene CO verursacht eine Senkung des CO-Spiegels des zirkulierenden Hb und daher rechnerisch — im Gegensatz zur Ansicht von Wollheim — eine Zunahme der zirkulierenden Blutmenge. Diese scheinbare Zunahme kann also nur geringfügig sein. Haldane erwähnt ferner die Möglichkeit der Fehlerentstehung durch das physikalisch im Körper gelöste CO; praktisch ist diese Menge so klein (0,3 ccm), daß sie nicht zu beachtet werden braucht.

Von Wachholtz wurde behauptet, daß CO im Körper oxydiert wird. Haldane hat sich auch dieser Frage gewidmet und gefunden, daß eine Maus höchstens 3% des vorhandenen CO in 1 Stunde verbrennen kann. Wir haben ebenfalls beim Menschen während 1 Stunde bei Atmung am geschlossenen System den CO-Gehalt des Blutes mehrmals kontrolliert und keine Abnahme feststellen können. Fenn und Cobb fanden allerdings am isolierten Skelett- und Herzmuskel der Ratte und des Kaninchens eine Steigerung des O_2-Verbrauchs, wenn der N_2 der Luft durch CO ersetzt wurde. Dieser gesteigerte O_2-Verbrauch beruhte auf einer Verbrennung des CO zu CO_2, wie gasanalytisch bestätigt werden konnte. Die Ergebnisse dieser Versuche sind allerdings nicht ohne weiteres auf unsere Verhältnisse zu übertragen, da es sich um sehr hohe CO-Konzentrationen handelte. Findet in der Tat eine Oxydation des CO im Organismus statt, so ist sie sicher sehr gering und braucht während unserer relativ kurzen Versuchsdauer nicht berücksichtigt zu werden.

Am heftigsten umstritten und in der Methodik der Blutmengenbestimmung von größter Bedeutung sind einerseits die Frage der gleichmäßigen Verteilung der eingeführten Substanz (CO, Farbstoff) im ganzen Blut und andererseits die Frage der Konstanz des Verhältnisses Erythrocyten : Plasma, in unserem Fall Hb : Plasma, in allen Stromgebieten des menschlichen Organismus. Beide Punkte stehen immer noch zur Diskussion. Sie berühren nicht nur die Blutmengenbestimmung mit der CO-Methode, sondern auch mit den Farbstoffmethoden.

Daß zwischen Einführung des Fremdstoffs und der Blutentnahme eine bestimmte minimale Zeit gewartet werden muß, bis der Fremdstoff im Blute gleichmäßig verteilt ist, konnten schon Boycott und Douglas nachweisen. Sie fanden, daß die kleinen Blutmengenwerte, die von Haldane und Smith mit dem CO-Verfahren gefunden worden waren ($^1/_{20}$ des Körpergewichtes), auf einer zu kurzen Mischzeit von 2—3 Min. beruhten. Die Versuche von Boycott und Douglas zeigten eine bedeutend höhere Konzentration des CO im Blute, wenn nach Verabfolgung des CO nur $3^1/_2$ bzw. 1 Min. mit O_2 nachgeatmet wurde, als wenn die Blutproben erst $16^1/_2$ bzw. 6 Min. nachher entnommen wurden. Arnold, Carrier, Smith und Whipple, die der Methodik der Blutmengenbestimmung eingehende Untersuchungen zugrunde gelegt haben, fanden am besten, das Blut 4 Min.

nach der Inhalation des CO zu entnehmen. Douglas und Priestley warten neuerdings 15 Min. bis zur Blutentnahme.

Theoretisch müßte die Blutentnahme zu einer Zeit erfolgen, wo das CO oder der Farbstoff schon gleichmäßig verteilt sind, aber noch keine Abnahme durch Eindringen in die nicht zirkulierenden Blutanteile oder auf irgendeine andere Art zustande gekommen ist. Barcroft konnte nämlich nachweisen, daß bei Ratten das Milzblut 6—10 Min. nach der CO-Inhalation bei 25%igem CO-Hb-Gehalt noch völlig CO-frei oder noch sehr CO-arm war, daß aber nach dieser Zeit das Milzblut langsam CO aufzunehmen beginnt. Bei Meerschweinchen blieb das Milzblut sogar 2 Stunden lang CO-frei. Gestützt auf diese Tatsachen hat z. B. Eppinger die Blutentnahme 5—7 Min. nach der CO-Inhalation ausgeführt, um die gerade zirkulierende Blutmenge ohne das deponierte Blut erfassen zu können. Auch wir haben uns für die Blutentnahme auf 5—9 Min. nach der CO-Inhalation festgelegt, da nach dieser Zeit die Verteilung im Organismus erfolgt war, wie wir später zeigen werden.

Der Nachweis der gleichmäßigen Durchmischung des Blutes mit dem CO oder dem Farbstoff wurde von den meisten Autoren so geführt, daß an einer bestimmten Körperstelle, meist aus der Cubitalvene, eine bestimmte Zeit nach Verabreichung des Stoffes eine Blutprobe entnommen wurde, dann nach einer weiteren bestimmten Zeit eine zweite Probe an derselben Stelle. War die Konzentration des Fremdstoffs in beiden Proben dieselbe, so wurde angenommen, daß zwischen den beiden Entnahmen keine Konzentrationsverschiebungen mehr stattgefunden haben und daher die Verteilung eine gleichmäßige war.

Keith, Geraghty und Rowntree fanden beim Menschen 4 Min. nach Injektion des Farbstoffs den Höhepunkt der Farbstoffkonzentration im Blute. Bei kleinen Tieren wurde das Maximum schon früher erreicht (Harris, Büttner). Die meisten Autoren, die mit der Farbstoffmethode arbeiten, entnehmen die zu untersuchende Blutprobe 3—6 Min. nach der Farbstoffinjektion. Seyderhelm und Lampe verlangen eine doppelte Entnahme nach 3 und 6 Min., um ein möglicherweise rascheres Abwandern des Farbstoffs aus dem Plasma, wie es bei gewissen Krankheiten vorkommen kann (Amyloidose, Nephrose), zu erfassen. Uhlenbruck und Leyendecker warten 7 Min., um auch Gefäßgebiete mit langsamerer Strömung des Blutes in die Bestimmung einbeziehen zu können. Der allgemeinen Auffassung, daß in etwa 4 Min. der Farbstoff gleichmäßig im Blut verteilt sei, trat Lindhard entgegen. Wir werden später darauf zurückkommen.

Es schien uns nicht überzeugend, die gleichmäßige Durchmischung des Blutes mit dem injizierten oder inhalierten Fremdstoff durch mehrmalige aufeinanderfolgende Blutentnahmen an derselben Körperstelle nachweisen zu wollen. Auch die Entnahme an parallelen Körperstellen, wie z. B. aus beiden Cubitalvenen (Wollheim) war nicht beweisend genug. Es konnte

wohl damit nachgewiesen werden, daß ein bestimmtes Gleichgewicht in der Verteilung des Fremdstoffes zustande gekommen war, aber ob die Durchmischung im ganzen Körper gleichmäßig war, war durch Blutentnahme aus derselben oder einer parallel gelegenen Vene nicht möglich.

Die Blutentnahme bei Anwendung der Farbstoffmethode muß nach 3 bis 7 Min. geschehen, da sonst die Eliminierung des Farbstoffs aus dem Blute falsche Werte ergibt. Mit der CO-Methode kann man jedoch die Versuchsperson beliebig lange am geschlossenen System atmen lassen und den CO-Spiegel im Blute konstant halten. Das CO-Verfahren ist daher zum Studium dieser Frage geeigneter. Die lichtelektrische Bestimmung des CO-Hb bietet nun den weiteren Vorteil in relativ kurzer Zeit mehrere CO-Hb-Bestimmungen in geringen Blutmengen, die aus dem Ohr, Finger, Zehe usw. entnommen werden können, auszuführen.

Wir stellten uns zur Aufgabe, die Verteilung des CO im Blute eine bestimmte Zeit nach der CO-Inhalation (5—9 Min.) in liegender und sitzender Position im Nüchternruhezustand an einer Anzahl von Versuchspersonen zu untersuchen durch gleichzeitige Bestimmung des CO-Hb am Ohr-, Finger-, Zehen- und Cubitalvenenblut. In Tabelle 4 sind die Versuche in liegender Position der V.P. angeführt.

Tabelle 4. Bestimmung der CO-Verteilung und der Blutmenge an der liegenden V. P. unter Grundumsatzbedingungen.

Nr.	Name	Alter	Gewicht	CO-Hb %				Blutmenge (ccm)	
				Ohr	Finger	Zehe	V. cubit.	total	pro kg
1	P. S.	22	71	12,4	13,1	12,4	13,2	6120	86
2	F. St.	40	75	12,4	12,4	12,4	12,3	5370	71,5
3	F. N.	55	62	16,6	15,6	16,8	15,8	3860	62
4	E. H.	34	65	14,6	14,6	14,6	14,0	4620	71
5	I. F.	34	69,5	10,5	9,8	10,5	10,1	7000	100
6	E. W.	50	57,5	14,6	13,1	15,5	13,1	4450	77
7	P. S.	22	71	12,4	11,4	12,5	11,4	6650	93,5
8	H. G.	48	59,5	17,3	16,7	17,9	17,6	5240	87,5

Aus der Tabelle geht deutlich hervor, daß das eingeatmete CO-Gas innerhalb 5—9 Min. gleichmäßig im Körper verteilt ist. Die Werte fallen nicht außerhalb der Fehlergrenze der Methode, mit Ausnahme von Versuch Nr. 6, was auf eine leichte Inkonstanz der Hg-Lampe zurückzuführen ist und also keine reelle Differenz ist. Wir können daher behaupten, daß das CO beim liegenden herzgesunden Menschen 5 Min. nach Ende der CO-Inhalation gleichmäßig im strömenden Blut verteilt ist. Es ist anzunehmen, daß dasselbe Verhalten auch für injizierte Farbstoffe gilt. Der Beweis kann jedoch nicht in analoger Weise geführt werden, da zur Bestimmung der Farbstoffkonzentration im Blute eine größere Blutmenge notwendig ist, die aus einem größeren Gefäß entnommen werden muß.

Tabelle 5. Bestimmung der CO-Verteilung und der Blutmenge an der sitzenden nüchternen Versuchsperson.

Nr.	Name	Alter	Gewicht	CO-Hb %				Blutmenge (ccm)	
				Ohr	Finger	Zehe*	V. cubit.	total	pro kg
1	F. G.	31	78	14,1	12,7	13,5	13,9	5300	68
2	F. N.	55	62	18,8	17,9	11,4 14,6	17,6	4005	64,5
3	O. Ae.	24	62	16,6	15,8	16,3	15,2	5500	88,5
4	E. St.	11	26,3	20,6	18,5	17 18,5	17,6	1870	71
5	P. S.	22	71	12,4	11,4	7,2 11,1	11,4	6680	94
6	F. B.	53	87	17,3	16,7	17,9	17,6	8160	94
7	H. G.	22	65	14,6	12,2	11,2	—	—	—
8	H. St.	19	80	19,1	16,5	14,5	—	—	—
9	F. S.	29	75	13,3	13,0	7,0	—	—	—

* Wo zwei Werte stehen, bedeutet der erste den CO-Hb-Gehalt im ersten und der zweite im zweiten Blutstropfen.

In derselben Weise untersuchten wir V.P., in sitzender Position, nachdem diese schon vor dem Versuch 15—30 Min. in dieser Stellung zugebracht hatten.

Nur der kleinere Teil der V. P. (Nr. 1, 3 und 6) in Tabelle 5 zeigt eine gleichmäßige Verteilung des CO im Körper. Bei den anderen V.P. ist der höchste CO-Hb-Gehalt im Ohrblut, der niedrigste im Zehenblut festzustellen, Finger- und Venenblut, die hier, wie auch in den Versuchen am liegenden Patienten, in ihrer CO-Hb-Konzentration meist parallel gehen, liegen dazwischen.

Die Kreislaufverhältnisse erfahren durch den Lagewechsel eine deutliche Umstellung. Ein Teil der V.P. vermag sich dem vermehrten Einfluß der Schwerkraft auf den Kreislauf anzupassen, die Verteilung des CO im Blute ist in den Grenzen unserer Methodik eine gleichmäßige. Bei den anderen V.P. — bei 3 Personen (Nr. 2, 4 und 5) handelt es sich um alte Fälle von Poliomyelitis acuta anterior mit intaktem Herzen ohne cyanotische Erscheinungen an den Beinen — genügt der Kreislauf nicht mehr, um auch im Sitzen in den Beinen eine gleichmäßige Durchmischung des Blutes mit dem CO zu ermöglichen. Es ergibt sich aus diesen Befunden, daß auch bei Personen mit normal funktionierendem Herzen nur geringe vasomotorische Regulationsstörungen genügen, um die Durchblutung der Beine und in geringem Maße auch der Arme beim Sitzen im Sinne einer Verlangsamung zu verändern. Wahrscheinlich ist das sogar bei einem großen Teil von „Normalpersonen“ der Fall.

Die Strömungsgeschwindigkeit in sogenannten Depotorganen ist nach Barcroft und Benatt 5—7mal, nach Wollheim 5—20mal verlangsamt. Matthes und Malikiosis konnten bei Normalpersonen eine deutliche Herabsetzung der Strömungsgeschwindigkeit des Blutes im

Bein beim Sitzen und Stehen gegenüber derjenigen beim Liegen mit der lichtelektrischen Methode von Matthes nachweisen.

Es fragt sich, ob nicht bei sitzenden V.P. die Mischzeit von 5—9 Min. zu kurz angenommen wird, um eine gleichmäßige Verteilung des CO im Blute zu erreichen. Wir haben daher einzelne V.P. bis 1 Stunde nach der CO-Inhalation am geschlossenen System atmen lassen und in Abständen von etwa 20 Minuten den CO-Hb-Gehalt im Ohr-, Finger- und Zehenblut bestimmt.

Die kurvenmäßige Darstellung eines dieser Versuche (Abb. 5) ergibt, daß auch nach 1 Stunde die Unterschiede in der CO-Hb-Konzentration in der beschriebenen Weise bestehen bleiben. Dies läßt darauf schließen, daß in sitzender Stellung in gewissen peripheren Stromgebieten, besonders in der unteren Extremität, Blut vollkommen oder teilweise vom allgemeinen Kreislauf ausgeschaltet ist.

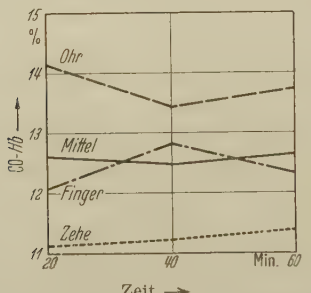


Abb. 5. CO-Hb-Gehalt bei ruhig sitzender V. P. 20′, 40′ und 60′ nach Inhalation des CO.

Abb. 6. CO-Hb-Gehalt bei sitzender V.P. mit leichter Bewegung der Arme und Beine 20′, 40′ und 60′ nach Inhalation des CO.

Schon Lindhard fand bei Blutmengenbestimmungen an der ruhig sitzenden V.P. Unterschiede in der Farbstoffkonzentration zwischen dem Blut der V. cubitalis und der V. saphena, wobei die Konzentration in der letzteren geringer ist. Er folgert daher, daß im Ruhezustand überhaupt keine gleichmäßige Durchmischung des Blutes mit dem injizierten Farbstoff möglich sei und postuliert, daß die Versuchsperson nach der Injektion des Farbstoffs bis zur Blutentnahme sich leicht bewegen müsse. Er fand dann unter diesen Bedingungen eine gleichmäßige Verteilung des Farbstoffs im Blute. Seinen Forderungen schloß sich auch Holboll an. Auch wir konnten uns überzeugen, daß im Sitzen eine leichte Bewegung der Arme und Beine die gleichmäßige Durchmischung des Blutes mit dem CO fördert (Abb. 6). Obgleich im Sitzen bei Ruhe eine gleichmäßige Durchmischung in vielen Fällen fehlt, so muß betont werden, daß bei der Blutmengenbestimmung nach Lindhardt eben nicht mehr die zirkulierende Blutmenge des ruhenden Menschen, sondern irgendein anderer nicht den Ruhebedingungen entsprechender Wert gemessen wird, der keine Vergleichsbasis für weitere Bestimmungen an derselben V.P. oder für Werte anderer Untersucher abgeben kann. Aus diesen Gründen ist dringend zu fordern, daß Blutmengenbestimmungen unter Grundumsatzbedingungen durch-

geführt werden, wie es ja schon von vielen Autoren, wie Rowntree, Keith und Roth, Eppinger, Wollheim u. a. getan worden ist. Schon der Lagewechsel ergibt ja nach unseren Untersuchungen Störungen der Kreislaufregulationen bei herznormalen Personen und damit auch Änderungen in der Strömungsgeschwindigkeit und zirkulierenden Blutmenge.

Wir möchten unsere Befunde über die Verteilung des CO im Organismus dahin zusammenfassen, daß bei herznormalen Versuchspersonen im Liegen die Funktion und Regulation des Kreislaufs genügt, um innerhalb 5—9 Min. eine gleichmäßige Verteilung des CO im Blute herbeizuführen. Im Sitzen ist das Verhalten nicht mehr so eindeutig. Obgleich auch bei allen Herznormalen eine leichte Anhäufung von Blut in den unteren Extremitäten zu erwarten ist (Atzler und Herbst), vermögen doch V.P. mit anatomischer und funktioneller Intaktheit des Kreislaufsystems den vermehrten hydrostatischen Druck zu kompensieren, so daß auch bei diesen nach 5—9 Min. das CO in allen Körperpartien gleichmäßig verteilt ist. Bei einem anderen Teil herzgesunder V.P. ist der Kreislaufmechanismus gestört, eine gewisse Menge Blut bleibt in der unteren Extremität liegen oder zirkuliert nur sehr langsam.

Dieses verschiedene Verhalten im Sitzen muß sich auch auf die zirkulierende Blutmenge auswirken. Eine gleichmäßige Verteilung des CO im Blute spricht dafür, daß diese sich beim Übergang vom Liegen zum Sitzen nicht verändert entsprechend den Befunden von Schellong und Heinemeier; enthält jedoch das Blut der unteren Extremität weniger CO als dasjenige des Armes und des Ohres, wie es bei herzgesunden V. P. mit Störung der Kreislaufregulation der Fall ist, muß die Berechnung aus dem Armvenenblut beim Sitzen einen kleineren Blutmengenwert ergeben als im Liegen (Eppinger, Levin).

In der Pathologie der Herz- und Gefäßstörungen muß dieses Verhalten beim Übergang aus liegender zu sitzender Stellung noch ausgeprägter sein. Das ist von Eppinger, Schellong und Heinemeier, Levin, Wollheim u. a. in überzeugender Weise gezeigt worden. Wir möchten hier nur kurz auf die Arbeiten von Wollheim hinweisen. Dieser Autor fand nämlich mit Hilfe von Blutmengenbestimmungen und gleichzeitigen kapillarmikroskopischen Studien, daß die zirkulierende Blutmenge bei Entstehung einer flächenhaften Cyanose, herbeigeführt durch Sitzen der V.P. oder durch Anlegen einer Staubinde an der unteren Extremität, deutlich abnimmt (um 800—1800 ccm) unter gleichzeitig starker Erweiterung der subpapillären Plexus der Haut der Beine. Es kommt in diesen Kreislaufbezirken infolge einer Kapillarbetriebsstörung zu einer totalen oder partiellen Stase, das darin enthaltene Blut wird der Zirkulation entzogen.

Besondere Aufmerksamkeit haben wir auch der Frage des Verhältnisses Hämoglobin zu Plasma geschenkt. Da wir bei der Messung des CO—Hb

gleichzeitig mit großer Exaktheit den Hb-Wert des Blutes zu bestimmen in der Lage waren, haben wir auf die Bestimmung des Hämatokritwertes, d. h. des Verhältnisses Erythrocyten—Plasma, die mit einer relativ großen Fehlerbreite behaftet ist, verzichtet.

Eingehende Untersuchungen über dieses Problem stammen von Smith, Arnold und Whipple. Sie bestimmten bei demselben Hund die Blutmenge nacheinander mit der Farbstoff-, der CO- und der Welckerschen Entblutungsmethode. Die mit Hilfe des Hämatokritwertes aus der mit der CO-Methode bestimmten Hb-Menge berechnete Wert war kleiner als der mit Hilfe der Farbstoffmethode berechnete Wert. Nach Ansicht dieser Autoren muß der wirkliche Blutmengenwert die Summe der Hb-Menge und der Plasmamenge sein; dieser Wert liegt zwischen den beiden mit Hilfe des Hämatokritwertes berechneten Blutmengenwerte. Es ist aus diesen Gründen nicht möglich, ausschließlich mit der CO-Methode oder mit der Farbstoffmethode den wirklichen Blutmengenwert zu bestimmen, da der aus dem Venenblut bestimmte Hämatokritwert nicht demjenigen des Arteriolen- oder Kapillarblutes entspricht, die Mischung zwischen Zellen und Plasma also nicht überall die gleiche ist. Die Hämatokritwerte des aus großen Gefäßen entnommenen Blutes so aus der V. cubitalis, V. jugularis, V. porta, Art. carotis, A. femoralis usw. zeigten wohl überall eine gute Übereinstimmung, die mikroskopische Untersuchung der kleinen Blutgefäße jedoch zeigte einen schneller fließenden axialen Blutstrom mit vorwiegend roten Blutzellen und einen peripheren, langsamer fließenden Strom mit vorwiegend Plasma. Dieser plasmareichere periphere Strom wird mit der CO-Methode nicht erfaßt, wohl aber mit den Farbstoffmethoden. Deshalb sind die Blutmengenwerte, die mit Hilfe der Farbstoffmethoden gefunden werden größer, als diejenigen mit der CO-Methode gefundenen.

Fahrhaeus konnte im Modellversuch ähnliche Verhältnisse nachweisen. In Glaskapillaren unter 0,5 mm Durchmesser fließendes Blut erfährt mit zunehmender Verengerung des Lumens eine zunehmende Verdünnung, in dem die im zentralen Teil schwimmenden Blutkörperchen sich rascher fortbewegen als der periphere Plasmaanteil. Schon früher konnten Cohnstein und Zuntz Kapillaren feststellen, die zellfreies Plasma enthielten. Brednow gibt Differenzen von 10—15% des Hb-Gehaltes in den Vv. portae, cavae, hepaticae und saphenae beim Hunde an. Er stellte gegensinnige Regulationen von Plasma- und Erythrocytenmenge fest. So war nach Adrenalingabe beim Tier eine Hb-Zunahme in der V. porta und in der Peripherie um 10—25% nachzuweisen, während in der V. hephatica das Hb um etwa 10% abnahm. Umgekehrte Verhältnisse zeigten sich ungefähr in den gleichen Mengenverhältnissen bei Injektion von Histamin. Lanson und Nagajama, geben an, daß das Blut als Suspension von Zellen Mischungsveränderungen unterliegt. Aus diesen Gründen wird von mehreren Autoren (Whipple und Mitarbeiter, Lanson und Nagayama, Seyderhelm und Lampe, Ewig und Hinsberg, Frank und Mitarbeiter)

zur exakten Blutmengenbestimmung die Kombination der CO- und Farbstoffmethode gefordert.

Demgegenüber wird von anderen Autoren der Fehler, der bei Berechnung der Blutmenge aus dem Hämatokritwert entsteht, nur gering eingeschätzt. So z. B. von Plesch, Erlanger, Rowntree und Mitarbeiter. Ein konstantes Verhalten des Hb im ganzen Kreislauf geben auch Naegeli, Bürker und Hino an. Auch die übereinstimmenden Resultate, die in pathologischen Fällen z. T. mit der Farbstoffmethode (Wollheim), z. T. mit der CO-Methode (Eppinger und Mitarbeiter) erzielt worden sind, sprechen gegen einen allzugroßen Einfluß der Erythrocyten-Plasmaverschiebung im Körper. Eine gleichmäßige Verteilung der Blutzellen im Körper fanden auch Hitzenberger und Tuchfeldt.

Wir haben zur Klarstellung dieser Frage gleichzeitig Hb-Bestimmungen an verschiedenen Körperstellen ausgeführt (Tabelle 6). Durch das freundliche Entgegenkommen der chirurgischen Klinik Bern wurde es uns ermöglicht, bei zwei Patienten gleichzeitig Hb-Bestimmungen aus Ohrblut und Mesenterialvenenblut, das anläßlich einer Laparatomie entnommen wurde, zu unternehmen.

Die Abweichungen der Hb-Bestimmungen an zwei oder mehreren Körperstellen vom Mittelwert betragen meist nicht über $\pm 1\%$. Dabei ist aber eingeschlossen der Verdünnungsfehler, der Pipettenfehler, der Meßfehler und bei Versuch 1 und 2 auch der Fehler, der durch den Ge-

Tabelle 6. Hämoglobinbestimmungen (g%) in von verschiedenen Körperstellen herrührendem Blut.

Nr.	Name	Hb g% aus Blut von					Mittelwert	Maximale Abweichung in % vom Mittelwert
		Ohr	Finger	Zehe	V. cubit.	V. mesent.		
1	H. S.	14,98	14,55	14,20	14,63	—	14,59	+ 2,6 − 2,6
2	P. S.	15,08	15,16	14,88	15,06	—	15,04	+ 2/3 − 1
3	A. L.	13,55	13,59	13,42	13,61	—	13,49	+ 1 − 1/2
4	F. G.	15,54	15,24	—	—	—	15,39	+ 1 − 1
5	E. H.	13,76	13,60	—	—	—	13,68	+ 1/2 − 1/2
6	E. W.	—	15,19	—	15,91	—	15,51	+ 3,5 − 3,5
7	I. F.	—	15,48	—	15,41	—	15,44	+ 1/3 − 1/3
8	P. S.	15,21	15,20	—	—	—	15,20	0
9	F. G.	—	15,27	—	15,94	—	15,61	+ 2,3 − 2,3
10	F. N.	15,58	—	—	14,98		15,28	± 2
11	H. G.	15,08	—	—	14,94	—	15,01	± 1/2
12	P. S.	—	15,97	—	16,27	—	16,12	± 1
13	A. S.	15,93	—	—	—	15,98	15,96	± 1/3
14	E. R.	14,23	—	—	—	13,97	14,10	± 1

brauch verschiedener Pipetten entsteht. In einigen Fällen ist die Abweichung größer. Dies ist darauf zurückzuführen, daß die Hb-Bestimmungen im gleichen Blute gemacht wurden wie die CO-Hb-Bestimmungen der früher erwähnten Versuche und die Blutentnahme oft ziemlich rasch gemacht werden mußte, worunter die Genauigkeit etwas litt. Irgendein gesetzmäßiger Unterschied der Hb-Konzentration an den verschiedenen Blutentnahmestellen ist nicht zu erkennen. Wir können aus unsern Resultaten nicht auf eine Inkonstanz des Hb : Plasmasverhältnisses schließen. Insbesondere ist auffallend, daß auch kein Unterschied in der Hb-Konzentration zwischen peripherem Blut und Blut aus dem Einzugsgebiet der V. porta besteht. Die Schwankungen sind wohl rein durch die Fehlerbreite der Methode bedingt. Möglicherweise existieren gewisse Unterschiede in der Hb-Konzentration verschiedener Kreislaufbezirke dennoch, doch sind sie kaum von einer Größenordnung, daß sie meßbar sind.

Es ergibt sich für uns der Schluß, daß bei der Berechnung der zirkulierenden Blutmenge mit Hilfe des prozentualen Hämoglobinwertes kaum ein anderer Fehler entstehen kann als der methodische.

Die Ergebnisse der ersten Untersucher der Größe der zirkulierenden Blutmenge zeigten große Unterschiede, je nachdem sie mit der CO-Methode (Haldane und Smith, Oerum, Plesch) oder mit der Farbstoffmethode (Rowntree und Mitarbeiter) bestimmt worden waren. Bei den neueren Untersuchungen wurde dieser Unterschied stets kleiner, da die Methodik stets verbessert wurde. Doch liegen die in der Literatur verzeichneten Normalwerte der Farbstoffmethoden stets noch etwas höher als die der CO-Methode. Eine Zusammenstellung geben Seyderhelm und Lampe. Vergleichbar sind am besten die prozentual auf das Körpergewicht bezogenen Werte, wobei allerdings auch hier je nach der Gewichtsklasse die Normen verschieden sind (Rowntree, Brown und Roth, Holboll, Lozoya). Mit der Farbstoffmethode fanden Keith, Rowntree und Geragthy 85 ccm/kg, Keith, Brown und Roth später 88 kg, Seyderhelm und Lampe 82—83 ccm/kg, Wollheim 75—85%. Eppinger fand mit der CO-Methode 5—6%, Hitzenberger 6—8%. Schon Boycott und Douglas fanden 1908 mit der CO-Methode 75 ccm/kg, einen bedeutend höheren Wert als Haldane und Smith. Schönholz bestimmte bei gesunden Frauen die Blutmenge mit dem CO- und Farbstoffverfahren und bekam auch größere Werte mit dem Farbstoffverfahren (9%) als mit dem CO-Verfahren (6,7%). Whipple und Mitarbeiter fanden in den schon erwähnten Arbeiten Werte von 10% mit der Farbstoff- und 8% mit der CO-Methode.

Wie erklären sich die Unterschiede? Die ersten mit der CO-Methode gefundenen Werte von Haldane und Mitarbeitern ($^1/_{20}$ des Körpergewichts) stellten sich zu groß heraus wegen zu kurzer Mischzeit nach der CO-Inhalation. Aber auch so besteht noch eine, wenn auch kleine Diskrepanz, die auffällig ist. Die große Unbekannte beim CO-Verfahren ist die an das

Muskelhämoglobin gebundene CO-Menge: je mehr CO an diesen extravasalen Hb-Anteil gebunden ist, desto kleiner wird der CO-Gehalt des zirkulierenden Hb und desto größer muß also bei der Berechnung die Blutmenge ausfallen. Diese unvermeidliche Fehlerquelle müßte folglich den CO-Blutmengenwert eher dem Farbstoffwert angleichen.

Eine weitere wichtige, aber leicht zu vermeidende Fehlerquelle beim CO-Verfahren ist das vor dem Versuch im Blut enthaltene CO-Hb. Von fast allen Benützern der CO-Methode wurde eine CO-Hb-Bestimmung vor der CO-Inhalation nicht ausgeführt. Wir haben schon erwähnt, daß CO-Beimengungen im Blut außerordentlich häufig sind. Wir konnten bei unsern Patienten fast ausnahmslos kleine CO-Hb-Mengen im Blut vor dem Versuch nachweisen (0—5%), namentlich bei solchen, die am Abend vor dem Versuch noch geraucht hatten. Es ist unerläßlich, wie schon Hartmann betont, diesen „Leerwert" namentlich beim Arbeiten mit geringen CO-Mengen vor dem Versuch zu bestimmen und vom nach dem Versuch bestimmten CO-Hb-Wert abzuziehen. Aber auch bei größerer Dosierung des CO, wie es von früheren Untersuchern getan worden ist, macht z. B. ein „Leerwert" von 2,5% CO-Hb bei einer Konzentration von 25% CO-Hb eine Differenz der Blutmenge von 10% aus. Dieser Punkt scheint mir für die Erklärung des Unterschiedes in den Blutmengenwerten zwischen CO- und Farbstoffmethode von nicht zu unterschätzender Bedeutung zu sein.

Whipple und Mitarbeiter machen zur Deutung der Unterschiede zwischen den beiden Verfahren auf die bereits erwähnten Geschwindigkeitsunterschiede des zellreichen, zentralen und plasmareichen peripheren Blutstromes in den kleinen Gefäßen aufmerksam. Wird der genannte Unterschied zwischen den beiden Methoden wirklich durch dieses Phänomen bedingt, so sind u. E. die CO-Werte als richtiger anzusehen; denn der periphere langsam fließende Plasmastrom in den kleinen Gefäßen (Parakapillaren nach Fahraeus) besitzt eine Strömungsgeschwindigkeit, die geringer als die des allgemeinen Kreislaufes ist. Er kann daher nicht zur eigentlichen zirkulierenden Blutmenge gezählt werden? Seine Vernachlässigung in der Berechnung spielt ja auch eine geringere Rolle, da die wichtigeren zelligen Bestandteile nur in geringer Zahl in ihm enthalten sind. Krogh lehnt übrigens das Vorkommen eines reinen peripheren Plasmastromes ab. Soweit die Diskussion über die Einwände und Anforderungen der CO-Methode.

Auf die Fehlerquellen der Farbstoffmethoden können wir hier nicht eingehen. Sie sind z. T. dieselben wie bei der CO-Methode, z. T. verschieden entsprechend den besonderen Eigenschaften der Farbstoffe. Brockmann hat vor einiger Zeit die bei der Farbstoffmethode in Betracht fallenden Fehlerquellen diskutiert.

Die Durchschnittswerte unserer Blutmengenbestimmungen betragen im Liegen 78,7 ccm/kg, im Sitzen 80 ccm/kg. Wir möchten aber keinen allzu großen Wert auf diese Zahlen als Normalwerte legen, da es sich, wenn

auch um herzgesunde, so doch um Versuchspersonen aus einer Klinik handelt, die zur Aufstellung einer Norm nicht geeignet sind. Der zur Berechnung der zirkulierenden Blutmenge im Sitzen benutzte CO-Hb-Wert war stets der maximale Wert (Ohr), in der Annahme, daß nur dort eine vollständige Mischung des Blutes mit dem CO stattgefunden hat.

Im allgemeinen wird angenommen, daß mit den üblichen Blutmengenbestimmungsmethoden der zirkulierende Teil des Blutes erfaßt wird. Unsere Untersuchungen sprechen dafür, daß es schwer ist, die Trennung zwischen zirkulierender und deponierter Blutmenge scharf zu ziehen (siehe auch Eppinger). Möglicherweise erlauben es die Zirkulationsverhältnisse in der Milz. An anderen Stellen jedoch sind die Übergänge fließend, d. h. ein gewisser Teil des Blutes befindet sich nicht in schneller Zirkulation, aber auch nicht stagnierend, sondern in langsamer Bewegung. Es ist nicht ausgeschlossen, daß dabei ein Teil dieses Blutes vollkommen von der Zirkulation ausgeschlossen und deponiert ist. Dafür spricht die Beobachtung, daß oft im Sitzen der erste Blutstropfen aus der Zehe einen niederen CO-Hb-Gehalt hat als die darauffolgenden (Tabelle 5). Die peripherstenPartien der unteren Extremität unter der Haut scheinen so am meisten der allgemeinen Zirkulation entzogen zu sein.

Seit der eingehenden Erforschung der Speicherfunktion bestimmter Organe sind auch Zweifel an der Zulässigkeit der bis dahin geübten Bestimmungsmethoden aufgetaucht (Rein). Es wird wohl kaum möglich sein, verwertbare Methoden zur Bestimmung der zirkulierenden Blutmenge, die auf einem anderen Prinzip beruhen, einzuführen, jedenfalls aber dürfen Blutmengenbestimmungen nur unter bestimmten Kautelen mit den üblichen Methoden durchgeführt werden, bei genauer Kenntnis der möglichen Fehlerquellen und der Grenzen der Anwendungs- und Deutungsmöglichkeit.

Zusammenfassung.

Es wird eine nach dem lichtelektrischen Differenzverfahren von Hartmann konstruierte, in der Ausführung modifizierte Apparatur zur Bestimmung des Kohlenoxydgehaltes und der Hämoglobinkonzentration im Blut beschrieben. Das Kohlenoxydhämoglobin kann mit einer Genauigkeit von $\pm 0{,}5\%$ CO-Hb, der Hämoglobingehalt mit einer solchen von $\pm 0{,}3$ bis $\pm 0{,}5\%$ Hb bestimmt werden.

Die Methode bietet zur Bestimmung der zirkulierenden Blutmenge beim Menschen folgende Vorteile:

1. Die große Genauigkeit der CO-Hb-Bestimmung erfordert nur relativ geringe, auch in pathologischen Fällen ungefährliche CO-Gasmengen.

2. Die Möglichkeit, die Hb-Konzentration des Blutes in derselben Blutmenge wie die CO-Hb-Konzentration zu bestimmen, erlaubt es, den zur Berechnung der zirkulierenden Gesamtblutmenge notwendigen, nur ungenau zu ermittelnden Hämatokritwert zugunsten des sehr genau feststellbaren Hämoglobingehaltes des Blutes zu verlassen.

3. Da zur Bestimmung des CO-Hb-Gehaltes nur sehr geringe Blutquantitäten notwendig sind (25 cmm), ist es möglich, zu gleicher Zeit an verschiedenen Körperstellen den CO-Hb-Gehalt zu messen.

Die Blutmengenbestimmung nach dem CO-Verfahren wird an Hand der Literatur und eigener Versuche besprochen und die Vorteile gegenüber den Farbstoffmethoden hervorgehoben.

Vor allem wird die Verteilung des CO im Blute nach der CO-Inhalation untersucht. Bestimmungen der CO-Hb-Konzentration im Blut des Ohrläppchens, des Fingers, der Zehe und der V. cubitalis ergaben, daß bei herzgesunder liegender Versuchsperson 5—9 Minuten nach der CO-Inhalation das CO im Körper gleichmäßig verteilt ist, dagegen bei sitzender V. P. die Verteilung nach derselben Zeit nur in einem Teil der Fälle eine gleichmäßige ist. Bei einem anderen Teil bestehen Differenzen in der CO-Verteilung derart, daß der höchste Gehalt im Ohrblut, der niedrigste im Zehenblut ist, während derjenige des Fingerblutes dazwischenliegt und meist mit dem Blut der V. cubitalis übereinstimmt. Die Bedeutung dieser Befunde für die Berechnung der zirkulierenden Blutmenge wird besprochen.

Bestimmungen der Hb-Konzentration des Blutes an verschiedenen Körperstellen (Ohr, Finger, Zehe, V. cubitalis, V. mesenterica) ergeben keine meßbaren, über dem Bestimmungsfehler liegenden Unterschiede.

Es wird ferner auf die Notwendigkeit hingewiesen, vor jedem Versuch den „Leerwert" des CO-Hb bei der V. P. zu bestimmen, da im Blute unserer V. P. vor dem Versuch CO-Hb-Mengen von 0—5% festgestellt worden sind und diese bei der Berechnung der zirkulierenden Blutmenge mitberücksichtigt werden müssen.

Literatur.

Atzler u. Herbst: Z. exper. Med. **38**, 137 (1923). — Barcroft, J.: Ergebn. d. Physiologie **25**, 218 (1926). — Barcroft, J., u. Benatt: J. of Physiol. **73**, 344 (1931). — Benatt: Kongr. f. inn. Med. **1930**, S. 240. — Brednow, W.: Z. exper. Med. **73**, 557 (1930); **74**, 224 (1930). — Boycott u. Douglas: Zit. nach Douglas. — Brockmann, H.: Z. exper. Med. **87**, 208 (1933). — Bürker, K.: Pflügers Arch. **167**, 143 (1917). — Büttner: Zit. nach Seyderhelm und Lampe. — Cherbuliez: Zit. nach Heilmeyer. — Cohnstein u. Zuntz: Pflügers Arch. **42**, 303 (1888). — Douglas, G.: J. of Physiol. **40**, 472 (1910). — Douglas, G., u. J. Haldane: Ebenda **44**, 305 (1912). — Douglas, G., u. Priestley: Human Physiology (a practical course). Oxford 1937. — Eppinger, H.: Pathologie und Therapie der Kreislaufstörungen. VII. Fortbildungslehrgang in Bad Nauheim. Leipzig 1930. — Eppinger, H.: Klin. Wschr. **1933**, I. S. 5. — Eppinger, H.: Wien. klin. Wschr. **1934**, I, S. 10 u. 47. — Erlanger, J.: Physiol. Reviews **1**, 177 (1921). — Ewig, W., u. K. Hinsberg: Z. klin. Med. **115**, 693 (1931). — Fahraeus, R.: Klin. Wschr. **1928**, I, S. 100. — Fenn, W. O., u. D. M. Cobb: Amer. J. of Physiol. **102**, 379, 393 (1932). — Frank, Auerbach u. Stanner: Klin. Wschr. **1935**, II. S. 1985. — Gréhant, N., u. E. Quinquaud: J. de l'anat. et de phys. **18**, 564 (1882/83). — Griesbach, W.: Handb. d. norm. und path. Phys. VI. 2. Teil, S. 667 (1928). — Gscheidlein: Untersuchungen aus dem Phys. Labor. Würzburg **11**, 154 (1869); zit. nach Haldane. — Haldane, J., u. J. L. Smith: J. of Physiol. **25**, 331 (1899). — Haldane, J.: J. of Physiol. **25**, 225 (1899/1900). — Haldane, J.: Respiration, New Haven 1927. — Hartmann, H.: Ergebn. d. Physiol. **39**, 413 (1937). — Harris: Brit. J. exper. Path. **1**, 142 (1920); zit. nach Seyderhelm und Lampe. — Har-

tridge, H.: J. of Physiol. **44**, 1 (1912). – Hartridge, H.: Ebenda **45**, 170 (1912/13). — Heilmeyer, L.: Medizinische Spektrophotometrie. Jena 1933. — Heilmeyer u. Krebs: Zit. nach Heilmeyer. — Heilmeyer u. Sundermann: Dtsch. Arch. klin. Med. **178**, 379 (1936). — Hino: Virchows Arch. path. Anat. **256**, 30 (1925). — Hitzenberger: Zit. nach Eppinger. — Hitzenberger u. Tuchfeldt: Wiener Arch. inn. Med. **18** (1928). — Holboll: Klin. Wschr. **1929**, I, S. 503. — Hüfner: Arch. f. Anat. u. Phys. **39** (1900). — Killick, E. M.: J. of Physiol. **87**, 41 (1936). — Kramer, K.: Handb. für biol. Arbeitsmeth. (Abderhalden). Abt. V, Teil 8, H. 8, S. 1085 (1935). — Krogh: Anatomie und Physiologie der Kapillaren. Berlin 1925. — Lamson u. Nagayama: J. Pharm. u. exper. Ther. **15**, 331 (1920); zit. nach Rowntree. — Levin, E.: C. r. Soc. Biol. **116**, 1089 (1934). — Lindhard, J.: Amer. J. Physiol. **77**, 669 (1926). — Lozoya: Ref. Ber. ges. Phys. **100**, 255 (1937). — Matthes, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 698 (1935). — Matthes u. Malikiosis: Dtsch. Arch. klin. Med. **179**, 500 (1936). — Millikan: J. of Physiol. 1938. — Morawitz, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **59**, 364 (1908). — v. Muralt, A., u. H. Hartmann: Ref. d. deutschen Phys.-Tagung 1936 in Ber. d. ges. Phys. — Naegeli, O.: Blutkrankheiten. Berlin 1931. — Oerum: Dtsch. Arch. klin. Med. **93**, 356 (1908). — Plesch, J.: Z. klin. Med. **93**, 241 (1922). — Rein, H.: Klin. Wschr. **1933**, I, S. 1. — Rowntree, Keith u. Geragthy: Arch. of internal Med. **16**, 547 (1915). — Rowntree, Keith u. Roth: The volume of the blood and plasma. Philadelphia und London 1928. — Schellong u. Heinemeier: Z. exper. Med. **89**, 49, 61 (1933). — Schönholz: Arch. Gynäk. **138**, 596 (1926). — Schürmeyer: Zit. nach Schönholz. — Seyderhelm u. Lampe: Ergebn. d. inn. Med. **27**, 245 (1925). — van Slyke: J. of biol. Chem. **40**, 103 (1919). — van Slyke u. O'Neill: Ebenda **61**, 523 (1924). — van Slyke u. Robscheit-Robbins: Ebenda **72**, 39 (1927). — Peters u. van Slyke: Quantitative clinical Chemistry, Vol. 2, Methods, London 1932. — Steinmann, B.: Verhandl. d. freien Vereinigung Schweizer-Physiologen, Jan. 1937. — Wachholtz: Pflügers Arch. **74**, 174 (1899). — Arnold, Carrier, Smith u. Whipple: Amer. J. of Physiol. **56**, 313 (1921). — Whipple, Smith u. Arnold: Ebenda **56**, 336 (1921). — Whipple: Ebenda **76**, 693 (1926). — Wollheim: Z. klin. Med. **108**, 248, 463 (1928). – Zuntz u. Plesch: Biochem. Z. **11**, 47 (1908).

Aus der Gastherapeutischen Abteilung der Militärärztlichen Akademie Berlin.
(Früherer Leiter: Oberstarzt Privatdozent Dr. Muntsch.)

Über Behandlung der durch Gelbkreuzkampfstoff gesetzten Hautwunden mit Kamille*.

Von

Joachim Metelmann,

Unterarzt a. d. Militärärztl. Akademie.

(Eingegangen am 13. Oktober 1938.).

Die bisher geübte Behandlung der durch den Gelbkreuzkampfstoff gesetzten Hautwunden erfordert die Anwendung von Chemikalien verschiedenster Art (Chloramin, Carrel-Dakinsche Lösung, Rivanol, Chinosolu. a.). Um eine Vereinfachung und gleichzeitig eine Verbilligung der Behandlung zu erreichen, ist man bestrebt, die Chemotherapeutica durch einheimische Naturprodukte zu ersetzen. Im folgenden wird die Wirkung unserer deutschen Kamille (Matricaria chamomilla) auf Gelbkreuzhautwunden untersucht.

Die Blüte der Matricaria chamomilla — nur sie wird benutzt — enthält 0,2—0,38% ätherisches Öl (je nach Herkunft und Erntebedingungen), etwa 9,5% Harz, 6,3% Gummi, 2,9% Bitterstoffe und in kleinen Mengen Wachs sowie apfel- und phosphorsaure Salze.

Die entzündungswidrige Wirkung ist nach Arnold abhängig von dem Gehalt an Oleum chamomillae. Heubner und Grabe geben das Azulen ($C_{15}H_{18}$) als den entzündungswidrigen Teil des Öles an, das präformiert in der Kamillenblüte vorkommt und hinreichend gegen Licht und Luft beständig ist. Binz und Grisar bewiesen, das durch Eingabe ätherischen Öles die Zahl der Leukocyten im Blut bis auf das Dreifache gesteigert wird. Versuche von Krüger-Nilsen zeigen Leukocyteneinwanderung — chemotaktischen Ursprungs — und eine sehr starke Zunahme der Länge, Dicke und Anzahl der Kapillaren.

Bei den angestellten Versuchen geschah die Lostschädigung durchweg durch Auftropfen von 0,01 ccm Dichlordiäthylsulfid auf die Innenseite des rechten Ohres des Versuchstieres (Kaninchen). Das entstehende Krankheitsbild unterscheidet sich von dem menschlichen besonders durch das nur seltene Auftreten von Blasen, die dann sehr schnell platzen. Die ersten Anzeichen der entstehenden Entzündung sind Hyperämie mit deutlicher Erweiterung auch der großen Gefäße, Auftreten von leichten Ödemen und starke Temperaturerhöhung am Ohr. Dieses zeigt bald schmierigen, weißlichen Belag, der mehr und mehr zunimmt. Dann bilden sich — nicht nur

* Ein ausführlicher Bericht erscheint demnächst als Dissertation.

an der Vergiftungsstelle — anämische Herde aus, die sich wallartig heben und nach einiger Zeit ein stinkendes, sulziges Sekret entleeren. Nach 3 Wochen ist das Kaninchenohr meist völlig deformiert, die stark zerklüftete Wundfläche ist völlig vereitert und mit nekrotischen Massen belegt.

In mehreren Versuchsreihen wurden verschiedene Behandlungsarten am so vergifteten Tier durchgeführt. Alle Einzelheiten können hier nicht beschrieben werden, nur das Ergebnis sei mitgeteilt.

Eine 48 Stunden nach der Vergiftung einsetzende Behandlung als Bad in Kamillosan-liquid. 1 : 10 mit anschließendem Vaseline-Schutzverband zeigt gegenüber einer gleichen Behandlungsweise mit Chloramin keinen Vor- aber auch keinen Nachteil. Nach 3 Wochen setzt bei allen behandelten Tieren eine stetig fortschreitende Reinigung des Ohres von den Sekretmassen und eine Besserung des Allgemeinbefindens ein.

Eine erst 96 Stunden nach der Verlostung einsetzende Behandlung hat keinen Erfolg mehr. Der Prozeß ist zu weit fortgeschritten, als daß eine in gleicher Weise durchgeführte Kamillosan- oder Chloraminbehandlung noch wirksam sein könnte. Nach 3 Wochen Behandlungsdauer macht sich an keinem Tier eine Heilung bemerkbar.

In einer anderen Reihe wurde eine kombinierte Behandlungsweise durchgeführt, d. h. es wurden in täglichem Wechsel ein Chloraminbad und ein Bad in einem Kamillenblütenaufguß gegeben (20 g Blüten auf 1 Ltr. kochendes Wasser, auf Körpertemperatur abkühlen lassen). Dabei zeigt sich bei keinem Tier eine Heilungs- oder auch nur Reinigungstendenz. Die gesetzten Wunden sind verjaucht, die Deformierung als Zeichen der Ohrknorpelbeteiligung ist sehr stark. Bemerkenswert ist hier das Auftreten von Lähmungen beider Hinterläufe bei 2 Tieren, die beide verendeten. Beide zeigten verhältnismäßig geringe Reaktionen am Ohr. Eine histologische Untersuchung im Pathologischen Institut der Militärärztlichen Akademie (Leiter: Oberstabsarzt Prof. Dr. Schürmann) ergab folgenden Befund:

„Rückenmark: Bei Nisslfärbung sind zahlreiche Ganglienzellen geschrumpft. Protoplasma dicht blau gefärbt. Die übrigen Ganglienzellen groß, enthalten zahlreiche Nisslschollen. Ausläufer kräftig, Kerne groß. Nucleolus scharf. Gliazellen ohne Besonderheiten, Kapillaren zart. Bei Markscheidenfärbung finden sich in Brust-, Hals- und Lendenmark unregelmäßige fleckförmige Ausfälle von Markscheiden im Bereiche der Vorder-, Seiten- und Hinterstränge. Die Lähmungen sind durch die zahlreichen Markscheidenausfälle im Rückenmark bedingt."

Eine Kamillosansalbenbehandlung wurde bei acht Tieren durchgeführt, von denen drei 6, drei 24 und zwei 48 Stunden nach der Verlostung mit Salbenverbänden versehen wurden. Nach 14 Tagen lebten von diesen acht Tieren nur noch drei, deren Wunden bei schlechtem Allgemeinbefinden keine Heilungstendenz erkennen ließen. Die anderen Tiere verendeten sehr bald nach Behandlungsbeginn unter verhältnismäßig geringen Erscheinungen am

Ohr (leichtes Ödem, leichte Hyperämie), aber mit sehr schweren Lähmungen der Hinterläufe, der Blase und des Mastdarmes.

Es zeigt sich hier, daß die feuchte Behandlung von Gelbkreuzhautwunden bei weitem besser ist als die Salbenbehandlung. Der sekretstauende Salbenverband verlegt der Eiterung den freien Abfluß, weist ihr den Weg in die Tiefe und ermöglicht damit ihre weitere Ausbreitung. Eine ausreichende Erklärung für die gehäuft aufgetretenen Lähmungen ist damit allerdings nicht gegeben.

Nach allem Gesagten ergibt sich bei der Behandlung von Gelbkreuzhautwunden im Tierversuch mit Kamille in verschiedener Form kein Vorzug — aber auch kein Nachteil — gegenüber dem üblichen Chloramin, das zur Kontrolle benutzt wurde.

Der wesentliche Faktor der Schmerzstillung durch Kamillenanwendung, der ja aus der allgemeinen Medizin hinreichend bekannt ist, läßt sich im Tierversuch nicht ergründen. Im Stadium der Abheilung von Gelbkreuzhautwunden ist die feuchte Kamillenbehandlung zur Beschleunigung des Prozesses zu empfehlen.

Literatur.

Arnold: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **123**. — Binz: Grundzüge der Arzneimittellehre. — Büscher: Grün- und Gelbkreuz. Hamburg, Verlag Himmelheber, 1932. — Heubner u. Grabe: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **171**, Heft 2/3. — Krüger-Nilsen: Über die entzündungswidrige Wirkung des Kamillenöls. Diss. 34. — Muntsch: Leitfaden der Pathologie und Therapie der Kampfgaserkrankungen. 4. Aufl. Leipzig, Verlag Thieme, 1936.

Aus dem Physiologischen Institut der University of Minnesota, Minneapolis, Minnesota.

Der mechanische Wirkungsgrad des versagenden Herzens.

Von

Maurice B. Visscher.

Übersetzt von Prof. Ernst Gellhorn.

(Eingegangen am 3. März 1938.)

In mehreren Untersuchungen, in denen Rühl[1-4] am Herz-Lungenpräparat über den Stoffwechsel des versagenden Herzens berichtete, bestimmte er den Gasgehalt des Blutes des Sinus coronarius und verglich es mit dem des arteriellen Blutes. Er setzte voraus, daß der Sinus coronarius einen bestimmten Teil des gesamten Coronarkreislaufs empfängt und multiplizierte daher die experimentell erhaltenen Zahlen mit einem Faktor um den gesamten Herzstoffwechsel zu erhalten. Eine andere Methode wurde in einem Experiment benutzt*, in dem ein spontanes Versagen des Herzens stattfand. Die Resultate in diesem Experiment stimmen mit denen seiner übrigen Beobachtungen nicht überein und werden später besprochen werden. Im allgemeinen beobachtete Rühl, daß zunehmendes Versagen des Herzens bei wachsendem diastolischen Volumen des Ventrikels** mit einer Verminderung des Sauerstoffverbrauchs und einer Zunahme des mechanischen Wirkungsgrades einhergeht. Dies Ergebnis steht im Widerspruch mit den Resultaten von Starling und Visscher[5], Gremels[6], Gollwitzer-Meier und Krüger[7], Peters und Visscher[8] u. a.

Sämtliche genannten Autoren haben den gesamten Sauerstoffverbrauch des Herz-Lungenpräparates direkt gemessen. Der Widerspruch in den Ergebnissen erscheint von genügender Wichtigkeit, eine gründliche Untersuchung der verantwortlichen Faktoren zu rechtfertigen. Aus prinzipiellen Gründen ist man geneigt, den direkt gemessenen Werten des Gesamtsauerstoffverbrauchs mehr zu vertrauen als den indirekt berechneten,

* Vgl. (1) Tabelle III, S. 583, Exp. 22. VII. 1932.

** Um eine Obstruktion des Coronarkreislaufes durch die Kanüle im Sinus zu vermeiden, nahm Rühl von dem Anlegen eines Kardiometers Abstand. Er maß den venösen Druck, der bekanntlich zunimmt, wenn beim Versagen des Herzens eine Erweiterung des Ventrikels eintritt.

[1] Rühl, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**, 568 (1933). — [2] Rühl, A.: Ebenda **174**, 96 (1933). — [3] Rühl, A., u. A. Wichler: Ebenda **175**, 665 (1934). — [4] Rühl, A.: Ebenda **187**, 22 (1937). — [5] Starling, E. H., and M. B. Visscher: J. of Physiol. **62**, 16 (1927). — [6] Gremels: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 1 (1936). — [7] Gollwitzer-Meier u. Krüger: Pflügers Arch. **238**, 251 (1936). — [8] Peters, Howard, C. u. Visscher, Maurice, B.: The American Heart Journal **11**, 273 (1936).

zumal die Berechnung auf eine Fraktion zurückgeht, die nicht konstant ist, sondern bekanntermaßen erheblich variiert. Da aber einige von Rühls Zahlen so erheblich von denen abweichen, die mittels der klassischen Methoden erhalten wurden, scheint eine so einfache Erklärung unzureichend, die Sachlage vollständig aufzuklären. Anrep, Blalock und Hammouda[9] haben in der Tat gezeigt, daß die Blutverteilung zwischen dem Sinus coronarius und den Venae Thebesianae während des Versagens des Herzens um 30% variieren kann. Die Rühlschen Zahlen zeigen indessen noch größere Unterschiede.

Es erhebt sich die Frage, ob die Methoden der Blutgasanalyse genau genug sind, um Geltung zu beanspruchen gegenüber Schlußfolgerungen, die auf Messungen des Gesamtsauerstoffverbrauchs während langer Versuchszeiten basiert sind und eine Fehlergrenze von nur $\pm$ 5% aufweisen. Bei einer Sauerstoffausnutzung von 2%, die in Rühls Experimenten häufig war, ist die analytische Genauigkeit nicht größer als $\pm$ 25%. Da aber zahlreiche Beobachtungen vorliegen, in denen viele miteinander übereinstimmen, erscheint es richtiger, die oben geschilderte Diskrepanz nicht durch Mangel an analytischer Genauigkeit zu erklären. Wir wollen daher vorläufig annehmen, daß die analytischen Methoden Rühls durchaus einwandfrei waren.

Der beste Weg, die Frage zu entscheiden, wäre, das gleiche Problem gleichzeitig mit beiden Methoden zu studieren, um die Möglichkeit auszuschalten, daß ein unbekannter Faktor die Sachlage in einem Falle beeinflußt und nicht in dem anderen. Derartige Versuche, über die glücklicherweise Evans und Starling[10] berichtet haben, sind von Rühl nicht berücksichtigt worden. Mittels vielleicht weniger adäquater Methoden zeigen sie nun genau, was Rühl später beschrieben hat, nämlich, daß, wenn ein Herz für einige Zeit gegen eine bestimmte Last arbeitet, sein Sauerstoffverbrauch, gemessen durch die Sauerstoffdifferenz zwischen arteriellem und Coronarsinusblut sich vermindert. Vier solche Versuche von Evans und Starling sind unter Anfügung einiger Berechnungen in Tabelle 1 wiedergegeben. Es ist ersichtlich, daß der Sauerstoffverbrauch, der mittels der „inneren Methode" erhalten wurde, in jedem Falle erheblich abnimmt, während er bei Anwendung der äußeren Methode, die später von Starling und Visscher in veränderter Form angewendet wurde, entweder unverändert blieb oder zunahm. Die interessantesten Ergebnisse von Evans und Starling sind in Reihe 5 und 6 erhalten, wurden aber von diesen Autoren nicht in dieser Beziehung ausgewertet. Unter der Überschrift I/A werden die Quotienten des Sauerstoffverbrauchs, die mit beiden Methoden erhalten wurden, wiedergegeben. Reihe 6 zeigt die prozentuale Abnahme dieses Quotienten in der zweiten Versuchsreihe im Vergleich mit der ersten. Unzweifelhaft mißt die innere Methode mit zunehmender Zeit eine sich

[9] Anrep, Blalock and Hammouda: J. of Physiol. **67**, 87 (1929). — [10] Evans, C. Lovatt and E. H. Starling: J. of Physiol. **46**, 413 (1913).

Tabelle 1.

Evans, C. L., u. E. H. Starling: J. of Physiol. 46, 413—434 (1913). Tabelle 4, S. 425.

1	2	3	4	5	6
	Beobachtung Nr.	ccm O_2 per g Herzmuskel und Stunde		$\frac{I}{A}$	Prozentuale Veränderung in $\frac{I}{A}$
		Innere Methode I	Äußere Methode A		
Experiment 14	1	2,07	1,16	1,78	
	2	1,74	1,76	0,99	— 44
Experiment 15	1	1,80	1,42	1,27	
	2	1,04	1,35	0,77	— 39
Experiment 16	1	1,81	1,13	1,60	
	2	1,34	1,13	1,18	— 26
Experiment 17	1	2,91	3,10	0,94	
	2	1,44	3,30	0,44	— 54
		Adrenalin injiziert			
	3	7,8	9,10	0,86	+ 96
	4	6,3	9,2	0,69	— 20
				Mittel (mit Ausnahme des Adrenalinversuchs)	— 41

verringernde Menge des Gesamtsauerstoffverbrauchs. Es ist interessant festzustellen, daß Adrenalin den I/A-Quotienten für einige Zeit wieder normal macht.

Zwei Möglichkeiten der Interpretation bestehen. Entweder ist die Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs des Herz-Lungenpräparates, der durch die gesamte Sauerstoffabsorption von der Lunge gemessen wird, zur Messung des Herzstoffwechsels ungeeignet oder die sogenannte „innere" Methode ist unzuverlässig. Was ist die Sachlage? Wie könnten sich Fehler in die Stoffwechselbestimmungen bei der äußeren Methode (geschlossenes System, Respirationspumpe, Spirometer) einschleichen? Der erste Einwand ist offenbar, daß Lungen- und Blutstoffwechsel gleichzeitig mitbestimmt werden. Dieser Betrag wurde gesondert bestimmt; er ist unabhängig von dem Blutstrom und der Zeit (Evans und Starling[10]), eigene Beobachtungen (unpubliziert). Um den Stoffwechsel des Herzens selbst zu erhalten, wird diese Menge einfach von dem gesamten Sauerstoffverbrauch abgezogen. In einem Versuch über den Sauerstoffverbrauch der künstlich durchströmten Hundelungen konnten wir sogar kürzlich zeigen, daß der Zusatz von 4 Katzen-Einheiten Digitalis pro Liter Blut keine Änderung in dem Lungen- plus Blutstoffwechsel hervorruft. Die technische Frage nach der Exaktheit der Messung des Sauerstoffverbrauchs ist von Peters und Visscher[8] gründlich erörtert worden. Obwohl Evans und Starling noch nicht über die heutigen Verfeinerungen der Technik verfügten, so ist doch ihr Werk über den Gesamtsauerstoffverbrauch mit Methoden bestätigt worden, die Irrtümer ausschalten, die auf Lungenödem oder andere Änderungen in Lungenelastizität, Herzödem, Blutungen, zufällige Tem-

peraturänderungen und Schwierigkeiten in der Messung des Volumens der Ventrikel zurückzuführen sind. Mittels der Respirationsmethode im geschlossenen System kann man nichts anderes als den Sauerstoffverbrauch des Herz-Lungenpräparates messen. Irrtümer könnten nur infolge Änderungen in der Sauerstoffsättigung des Blutes vorkommen.

Aber Kontrollversuche zeigen, daß die Variationen in dem arteriellen O_2-Gehalt niemals größer werden als der experimentelle Fehler der Blutgasanalyse, es sei denn, daß ein allgemeines Lungenödem vorliegt. Dann fällt nämlich der O_2-Gehalt des Blutes so sehr, daß unwahrscheinlich niedrige Werte für den O_2-Verbrauch erhalten werden. Da aber unsere Ergebnisse sich von denen Rühls durch den höheren O_2-Verbrauch unterscheiden, kann dieser Fehler definitiv ausgeschlossen werden.

Wir kommen daher auf der Grundlage von Evans und Starlings Versuchen zu dem Schluß, daß aus irgendeinem Grunde die aus dem Coronarsinus strömende Blutmenge eine inkonstante Fraktion des gesamten Coronarkreislaufes darstellt und daher Werte für den Gesamtsauerstoffverbrauch des Herzens liefert, die mit zunehmender Versuchsdauer (und Versagen des Herzens) zu klein werden. Aus diesem Grunde ist die Coronarsinusmethode für Studien über den Herzstoffwechsel und insbesondere über Versagen des Herzens ungeeignet.

Diese Tatsache geht aus Rühls eigenen Beobachtungen hervor und wird durch andere wichtige Daten unterstützt, die Rühl nicht erwähnt. In vielen Versuchen, in denen Rühl CO_2-Bildung und O_2-Verbrauch maß, fand er ausnahmslos, daß der R. Q. während des Verlaufs des Versagens des Herzens anstieg, und zwar gewöhnlich über 1,0 und manchmal bis zu 1,7. Bayliss, Müller und Starling[11] zeigten dagegen, daß der R. Q. des gesamten Herz-Lungenpräparates im geschlossenen System niemals höher als 1,0 gefunden wird und in der Regel zwischen 0,80 und 0,90 bei normalem Blutzuckerstande schwankt. Rühl[1], S. 582, erklärt seine Werte für R. Q. über 1,0 als die Folge einer „partiellen inneren Erstickung". Eine derartige Erklärung mag für kurze Zeiten eine überreichliche CO_2-Bildung ausreichen, sie ist aber unzureichend, Rühls Ergebnisse zu erklären. Die zu erklärenden CO_2-Mengen können von seinen Zahlen berechnet werden, wenn wir annehmen, daß seine Analysen einwandfrei sind. Da der wahre R. Q. nicht größer als 1 sein kann, sind die Werte für CO_2-Bildung, die auf der Differenz des gefundenen (1) und des wahren R. Q. (> 1) beruhen, in Tabelle 2 berechnet. Als ein extremes Beispiel kann man Experiment Nr. 2 wählen, in dem ein durchschnittlicher R. Q. von 1,43 für 161 Minuten bestand. Die Überschuß-CO_2, d. h. diejenige CO_2, die den R. Q. von 1 auf 1,43 erhöhen würde, betrug 232 ccm. Dies ist der Minimalbetrag der CO_2-Bildung, der durch den gemessenen O_2-Verbrauch nicht erklärt wird. Nach

[11] Bayliss, L. E., E. A. Müller and E. H. Starling: J. of Physiol. **65**, 33 (1928).

Tabelle 2.

Rühl, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**, 568—585 (1933). Tabelle 3, S. 583.

Exp. 1. Zeit 41 min.
Durchschnittl. O_2-Verbrauch 5,0 ccm/min.
R. Q. 0,87 am Anfang des Versuchs.
R. Q. 1,57 am Ende des Versuchs.
CO_2-Bildung auf der Grundlage eines R. Q. = 0,87 — 4,35 ccm/min.
CO_2-Bildung auf der Grundlage eines R. Q. = 1,57 — 7,85 ccm/min.
Überschuß CO_2 3,50 ccm/min.
Gesamtüberschuß CO_2 — 144 ccm.
Hund 11,0 kg. Berechnetes Gewicht der Ventrikel 75 g.
Gesamt-CO_2-Gehalt des Herzmuskels* — 15 ccm.
Gesamt-CO_2 aus unerklärter Quelle — 129 ccm.

Exp. 2. Zeit 161 min.
Durchschnittl. O_2-Verbrauch 3,34 ccm/min.
Durchschnittl. R. Q. 1,43.
CO_2-Bildung auf der Grundlage eines R. Q. = 1,00 — 3,34 ccm/min.
CO_2-Bildung auf der Grundlage eines R. Q. = 1,43 — 4,78 ccm/min.
Überschuß CO_2 — 1,44 ccm/min.
Gesamtüberschuß CO_2 — 232 ccm.
Hund 11,0 kg. Berechnetes Gewicht der Ventrikel 75 g.
Gesamt-CO_2-Gehalt des Herzmuskels — 15 ccm.
Gesamt-CO_2 aus unerklärter Quelle — 217 ccm.

Exp. 3. Zeit 45 min.
Durchschnittl. O_2-Verbrauch 3,0 ccm/min.
R. Q. 0,95 am Anfang des Versuchs.
R. Q. 1,58 am Ende des Versuchs.
Durchschnittl. R. Q. 1,27.
CO_2-Bildung auf der Grundlage eines R. Q. = 0,95 — 2,85 ccm/min.
CO_2-Bildung auf der Grundlage eines R. Q. = 1,27 — 3,82 ccm/min.
Überschuß CO_2 — 0,97 ccm/min.
Gesamtüberschuß CO_2 — 44 ccm.
Hund 7,0 kg. Berechnetes Gewicht der Ventrikel 50 g.
Gesamt-CO_2-Gehalt des Herzmuskels — 10 ccm.
Gesamt-CO_2 aus unerklärter Quelle — 34 ccm.

Exp. 4. Zeit 41 min.
Durchschnittl. O_2-Verbrauch 5,0 ccm/min.
R. Q. 1,04 am Anfang des Versuchs.
R. Q. 1,29 am Ende des Versuchs.
Durchschnittl. R. Q. 1,17.
CO_2-Bildung auf der Grundlage eines R. Q. = 1,00 — 5,0 ccm/min.
CO_2-Bildung auf der Grundlage eines R. Q. = 1,17 — 5,85 ccm/min.
Überschuß CO_2 0,85 ccm/min.
Gesamtüberschuß CO_2 — 35 ccm.
Hund 8.5 kg. Berechnetes Gewicht der Ventrikel 60 g.
Gesamt-CO_2-Gehalt des Herzmuskels 12 ccm.
Gesamt-CO_2 aus unerklärter Quelle — 23 ccm.

---

* Berechnung auf Grundlage der Zahlen von Irving, Foster u. Ferguson (1932) unter der Annahme einer CO_2-Spannung von 50 mm Hg.

Rühl muß er von dem Puffersystem des Herzmuskels herrühren. Da aber nach Irving, Foster und Ferguson[12] der Hundemuskel nur 20 ccm Gesamt-CO_2 per 100 g bei 50 mm Hg CO_2-Spannung enthält, können nur 15 ccm CO_2 auf diese Weise erklärt werden, da das berechnete Gewicht der Ventrikel 75 g ist. Dennoch erschienen 232 ccm mehr CO_2 im Blute als der Sauerstoffaufnahme entspricht. Sehen wir von der ganz unwahrscheinlichen Umwandlung von Kohlenhydraten in Fett ab, so kommen wir zu dem Schluß, daß ein Teil des Sauerstoffs, der zur Bildung von CO_2 führte, nicht von dem Coronarsinusblut stammte.

Es ist nicht unsere Aufgabe, weiter die Faktoren, die zu einer solchen Dissoziation von O_2- und CO_2-Transport führen, zu erörtern. Es mag genügen, gezeigt zu haben, daß das überschüssige CO_2 nicht vom Puffersystem stammt. Dann bleibt aber die Frage, ob der Stoffwechsel auf Grund der O_2- oder der CO_2-Zahlen berechnet werden solle. Es besteht kein Grund zu bezweifeln, daß, vorausgesetzt der R. Q. ist bekannt oder konstant, der Stoffwechsel sich ebenso gut auf Grund der CO_2- wie der O_2-Zahlen berechnen läßt. Bayliss, Müller und Starling[11] haben zur Genüge gezeigt, daß solche Konstanz für das Herz-Lungenpräparat gilt. Es ist deshalb zweckmäßig, die CO_2 als Maß des Energiewechsels zu wählen.

Tabelle 3 enthält alle Experimente Rühls mit Versagen des Herzens, in denen R. Q. oder CO_2-Werte außer dem O_2-Verbrauch angegeben wurden. Obwohl mit zunehmender Zeit der Sauerstoffverbrauch regelmäßig

Tabelle 3.
Zahlen von A. Rühl: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 22—40 (1937).

	Zeit	Arbeit kg m/min	Schlag-frequenz	O_2 ccm/min	CO_2 ccm/Herzschlag
Von Tabelle 1:					
Experiment 1	0h 47′	1,05	172	4,5	0,023
11 kg Hund	2 36	0,98	144	3,7	0,022
Experiment 2	0 28	1,03	167	8,3	0,038
15,5 kg	0 50	1,03	172	7,5	0,045
Experiment 3	0 45	1,03	144	7,2	0,050
15,6 kg	1 52	0,96	137	6,2	0,050
	0 0	0,58	128	4,5	0,027
Experiment 4	0 7	0,63	128	4,2	0,028
9,5 kg	0 15	0,47	100	4,0	0,036
	0 22	0,44	95	5,0	0,043
Experiment 5	0 0	0,92	189	9,7	0,045
12,5 kg	0 4	0,94	160	5,0	0,054
Von Tabelle 2:					
Experiment 6	0 37	1,23	146	10,2	0,079
	0 43	1,18	128	9,5	0,099
Experiment 7	1 22	1,02	163	5,9	0,031
7,5 kg	1 41	1,01	150	5,6	0,044

[12] Irving, Laurence, H. C. Foster and J. K. W. Ferguson: J. of biol. Chem. **95**, 95 (1932).

abnahm, blieb die CO_2-Produktion unverändert in zwei Fällen und nahm in fünf anderen Versuchen sogar zu. Wesentlich ist, daß, wenn der Herzstoffwechsel auf Grund der CO_2-Zahlen gemessen wird, sich in keinem einzigen Falle eine Abnahme des Stoffwechsels ergibt.

Berechnet man auf Grund der CO_2-Werte den mechanischen Wirkungsgrad des Herzens in diesen Versuchen [unter Ausschluß solcher, in denen wegen einer verminderten Schlagfrequenz der Wirkungsgrad zunimmt (Starling und Visscher[5])], so erkennt man aus Tabelle 4, daß dieser regelmäßig abnimmt, wenn die Änderung des venösen Druckes ein Versagen des Herzens anzeigt. Rühls Behauptung, daß der Wirkungsgrad des Herzens bei seinem Versagen zunimmt, wird also durch seine eigenen CO_2-Werte entkräftet.

Tabelle 4. Abnahme des Wirkungsgrades des Herzens in Rühls Versuchen berechnet auf der Grundlage der CO_2-Bildung.

Versuch	Zeit nach der ersten Beobachtung in Min.	Druck im rechten Vorhof	Wirkungsgrad berechnet von		Bemerkungen
			O_2-Verbrauch	CO_2-Bildung	
Von Tabelle 3. Rühl, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**, 568—585 (1933).					
20. X. 1931	0	24	3,6	4,2	Schlagzahl konstant innerhalb 6%.
	36	32	3,8	2,3	
19. IV. 1932	0	17	10,5	9,2	Typisches Versagen des Herzens mit erheblichem Anstieg des venösen Druckes. Verminderung der Schlagfrequenz von 142 auf 125 erklärt den erhöhten Wirkungsgrad (vgl. [5]).
	55	31	11,4	8,5	
	95	38	9,6	6,0	
	131	40	8,7	5,8	
	161	50	9,7	6,3	
6. V. 1932	0	46	12,0	12,6	Mäßiges Versagen.
	55	55	11,3	7,1	
21. VI. 1932	0	35	7,6	7,3	Geringe Änderung im venösen Druck.
	41	40	9,0	7,0	
Von Tabelle 1. Rühl, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 22—40 (1937).					
1	0	40	10,7	11,9	Schlagzahl-Änderung von 172 auf 144 erklärt den erhöhten Wirkungsgrad (vgl. [5]).
	109	49	12,2	14,7	
2	0	32	5,7	7,5	
	22	41	7,1	6,8	
3	0	20	6,5	6,6	Sehr niedriger venöser Druck. Versagen äußerst zweifelhaft.
	67	30	7,1	6,5	
4	0	74	5,9	7,7	Arbeit vermehrt von 0 zu 7 Min. Formalin-Vergiftung. Venöser Druck stieg und Arbeit nahm erheblich ab. Versagen.
	7	76	6,9	8,2	
	15	94	5,4	5,9	
	22	92	4,0	4,9	
5	0	45	4,3	4,95	Druck im linken Vorhof fiel in der zweiten Periode. Kein Versagen des Herzens.
	4	55	8,5	4,95	

Rühl[1] berichtet auf S. 583 über ein Experiment mit Spontanversagen des Herzens, in dem ein vollständig isoliertes Herz verwandt und das gesamte Coronarblut gesammelt wird. In einer Zeit von 20 Minuten findet er hier einen konstanten O_2-Verbrauch (er nahm nur 2% zu!), aber eine deutlich verminderte Arbeitsleistung mit einem Fall in dem Wirkungsgrad von 6,1 zu 5,4%. Es ist bemerkenswert, daß in diesem einzigen Versuch, in dem der oben ausführlich geschilderte Fehler in der Versuchsanordnung vermieden wurde, der R. Q. kleiner als 1, aber inkonstant war. Das Ergebnis dieses Experiments steht im Widerspruch mit den Hauptergebnissen Rühls, ist aber im Einklang mit unseren eigenen Untersuchungen.

Da noch niemals eine längere Versuchsreihe über das Verhalten des mechanischen Wirkungsgrades des spontan versagenden Herzens unter Benutzung des Herz-Lungenpräparates veröffentlicht worden ist, schien es wünschenswert, die Ergebnisse von 50 derartigen Versuchen mitzuteilen, in der die Technik von Peters und Visscher[8] verwendet und die Ergebnisse ihren Angaben gemäß berechnet wurden. Der Hauptzweck dieser Versuche war, die Wirkung verschiedener Digitalisglucoside zu bestimmen. Zuerst wurden Kontrollperioden des versagenden Herzens erhalten und diese Versuche werden hier berichtet. In jedem Falle wurde das diastolische Volumen des Ventrikels durch entsprechende Änderung des venösen Druckes konstant gehalten, der arterielle Druck wurde ebenfalls konstant gehalten und keine weiteren Variabeln eingeführt.

Tabelle 5. Änderungen im Wirkungsgrad des Herzens bei spontanem Versagen des Herzens in einer Reihe von 20 Versuchen unter konstantem äußeren diastolischen Volumen.

Wirkungsgrad in Prozent. Zeit in Minuten nach dem Anfang des Versuchs.

Experiment Nr.	Zeit												
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	60	90
M 9	9,70		8,17		6,10		5,70					3,25	
M 10	2,67		2,50		2,50								
M 11	4,67		4,10		4,00		3,97		3,85			3,65	
M 12	8,80				7,27		6,83			5,85		5,14	
M 13	10,35			8,30									
M 14	5,85			5,25			2,62						
M 15	3,47		3,05			2,85			2,78				2,70
M 16	5,65				4,87			4,65	4,00			3,60	
M 17	5,30	4,40		3,53		3,14							
M 18	6,76			5,90			4,85				3,88	3,77	3,55
M 19	7,10	5,70	5,42										
M 20	9,75				8,55			6,05			4,95		
M 21	4,68		4,43				4,33						
M 22	7,40			5,55			4,78						
M 23	8,50			7,60	7,05		6,10	6,00				4,40	
M 24	7,68		5,70	5,00	4,73		4,25	4,12					
M 25	7,93	7,22				5,51							
M 26	5,90		5,60			4,78	4,43						
M 27	5,74	5,70				4,90	4,77						
M 28	8,60		8,20	9,93		6,48		4,60		3,90		3,70	

In jedem dieser 50 Versuche, von denen die Ergebnisse von 20 aufeinander folgenden Versuchen in Tabelle 5 wiedergegeben sind, nahm der mechanische Wirkungsgrad mit der Zeit ab. Dies trifft zu, obwohl die Geschwindigkeit dieser Abnahme für verschiedene Versuche verschieden ist und die absoluten Werte des mechanischen Wirkungsgrades am Beginn der Versuche erheblich variieren. Vergleicht man diese regelmäßigen Ergebnisse mit den unregelmäßigen Resultaten der Versuche, in denen Coronarsinusblut analysiert wurde, so kommt man zu dem Schluß, daß unsere Methode die zuverlässigere ist.

Wenn man den gesamten Sauerstoffverbrauch des Herz-Lungenpräparates bestimmt, so erkennt man, daß der Wirkungsgrad der Herzarbeit, Blut in die Aorta zu pumpen, mit dem Versagen des Herzens abnimmt. Da, wie erwähnt, der Lungenstoffwechsel mit der Zeit sich nicht verändert, so bleibt nur der Schluß übrig, daß im Zustande des spontanen Versagens der Wirkungsgrad des Herzmuskels abnimmt.

Zusammenfassung.

1. Die Durchrechnung der Versuche von Evans und Starling zeigt unzweifelhaft, daß das Coronarsinusblut einen mit der Zeit abnehmenden Teil des gesamten Sauerstoffs transportiert, den das Herz verbraucht.

2. Es wird gezeigt, daß die respiratorischen Quotienten Rühls einen Überschuß von CO_2 anzeigen, der durch das Puffersystem des Herzmuskels nicht erklärt werden kann.

3. Die Überschußkohlensäure zeigt einen Gesamtverbrauch von Sauerstoff an, der größer ist als auf Grund des Coronarsinusblutes berechnet wird.

4. Wird die CO_2-Bildung als Kriterium verwendet, so zeigt sich im Widerspruch mit seinen eigenen auf Grund des O_2-Verbrauchs erhaltenen Berechnungen und in Übereinstimmung mit anderen Autoren[5, 6, 7, 9], daß der Stoffwechsel des Herzens beim Versagen zunimmt und der mechanische Wirkungsgrad sich vermindert.

5. Es wird geschlossen, daß die „innere" Methode der Bestimmung des O_2-Verbrauchs ungeeignet ist, da variable Anteile des Gesamtsauerstoffverbrauchs von dem Coronarsinusblut transportiert werden.

6. Es wird über 50 Versuche mit Spontanversagen des Herzens und Messung des Gesamtsauerstoffverbrauchs berichtet. In jedem Fall nimmt die mechanische Wirksamkeit des Herzens mit der Zeit ab. Die Regelmäßigkeit dieser Ergebnisse steht in direktem Widerspruch zu den Ergebnissen der „inneren" Methode.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Oslo, Norwegen.

Die narkotische Stärke des Deutero-Alkohols im Vergleich mit Äthylalkohol.

Von

Klaus Hansen und **Ottar Dybing.**

(Eingegangen am 20. Oktober 1938.)

Wir haben uns die Aufgabe gestellt zu untersuchen, ob die Einführung von Deuteriumatomen in das Alkoholmolekül Einfluß auf die narkotische Wirksamkeit hat. Die Untersuchungen sind in der Form von vergleichenden Bestimmungen der narkotischen Wirkung des Äthylalkohols und des Deutero-Alkohols auf niedere Tiere: Fische, Wassermilben und Mückenlarven ausgeführt worden.

Der von uns verwendete Deutero-Alkohol ist identisch mit der von uns anläßlich einer früheren Untersuchung über die quantitative Analyse des Deutero-Alkohols verwendeten Probe (Klaus Hansen und Ottar Dybing[1]). Sie enthält 88,3% C_2D_5OD gelöst in 10,8% D_2O und 0,1% H_2O, sowie eine Beimischung von 0,8% C_2H_5OH. Außerdem sollen sich Spuren Äther und Ester vorfinden.

Diese Deutero-Alkohollösung ist kein ideelles Ausgangsmaterial für biologische Untersuchungen. Indessen ist die Beimischung anderer narkotisch wirksamer Stoffe doch so gering, daß man bei der hier angewendeten Arbeitsweise von einem Einfluß auf die Bestimmung der narkotischen Wirksamkeit des Deutero-Alkohols absehen kann. Da der Deutero-Alkohol über 99% der gesamten Alkoholmenge in der Probe beträgt, ist bei Angabe der narkotischen Konzentrationen für Deutero-Alkohol von der geringen Beimengung von Äthylalkohol (0,8%) abgesehen worden. Diese Vereinfachung bleibt infolge gewisser Einzelheiten der Arbeitsweise und infolge der Fehlergrenzen der Ergebnisse ohne meßbare Einwirkung auf die narkotischen Konzentrationen des Deutero-Alkohols.

Die Untersuchungen sind als Serienversuche mit steigenden Alkoholkonzentrationen ausgeführt worden. Es wurde diejenige Konzentration bestimmt, welche keines der Versuchstiere betäubte und jene, welche alle lähmte. Im Intervall zwischen diesen Konzentrationen ist sodann eine größere Anzahl Versuchstiere in gewissen Zwischenräumen verteilt worden. Aus den Ergebnissen ist die mittlere narkotische Dosis ND 50 berechnet worden, d. h. jene Dosis, welche 50% der Versuchstiere zu betäuben

---

[1] Hansen, K., u. O. Dybing: Biochem. Z. **298**, 110 (1938).

vermag. Die Berechnung ist nach Kärbers Formel[2] vorgenommen worden:

$$\log \mathrm{ND}\ 50 = x_0 \div \sum \frac{(p_1 + p_2)\, d}{2},$$

x_0 = Logarithmus der Dosis, welche alle Tiere betäubt,

$\frac{p_1 + p_2}{2}$ = Mittelzahl der Wirkung zweier aufeinanderfolgender Dosen,

d = Differenz der Logarithmen vorgenannter Dosen.

Der Mittelfehler für ND 50 ist nach der Formel: Quadrat der mittleren Abweichung des Logarithmus von ND 50 $= \sum \frac{(p\,q)\, d^2}{n}$ ausgerechnet worden.

p = Wirkung, ausgedrückt durch $\frac{\text{narkotisierte Tiere}}{n}$,

n = Anzahl Tiere in der Gruppe,

$p = 1 - p$.

Der Mittelfehler des Unterschiedes zweier Mittelwerte ist nach der Formel: $m_{\text{Differenz}} = \pm \sqrt{m_1^2 + m_2^2}$ ausgerechnet worden, wo m_1 und m_2 die Mittelfehler der beiden Mittelwerte sind.

Die Versuchstiere wurden in kleinen Gläschen mit verschiedenen Alkoholmischungen angebracht. Die berechneten Alkoholmengen wurden aus der Deutero-Alkoholprobe und aus einem 94%igen Äthylalkohol mit einer 1 cm³-Pipette (eingeteilt in 0,01 cm³) in einen Meßkolben abpipettiert und mit gewöhnlichem Leitungswasser verdünnt. Die drei Untersuchungsserien werden in der Reihenfolge, in welcher sie ausgeführt wurden, beschrieben werden.

Versuche mit Fischen, Acanthophacelus reticulatus (Syn. Girardinus guppyi, Poecilia reticulata).

Es wurden 2—3 Fischchen (Männchen, ungefähr 2 cm lang) in 50 cm³ Alkohollösung eingebracht. Die Beobachtungszeit betrug 4 Stunden. Konzentrationen und Wirkung sind aus Tabelle 1 und 2 ersichtlich. Die Fische werden als narkotisiert betrachtet, wenn sie nach 4 Stunden die Rückenlage einnehmen ohne Schwimmbewegungen auszuführen. Die Kontrolltiere in 50 cm³ Leitungswasser boten innerhalb der nämlichen Zeit keine Zeichen von Sauerstoffmangel. Die Temperatur in den Alkohollösungen betrug ungefähr 22° C.

Die Untersuchungsreihen mit Acanthophacelus reticulatus zeigen ungefähr die nämliche narkotische Wirkung von Äthylalkohol und von Deuteroalkohol, sofern man die narkotischen Konzentrationen in Gewichts-

[2] Kärber, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **162**, 480 (1931) (zitiert nach J. H. Burn: Biologische Auswertungsmethoden, 1937).

prozent Alkohol ausdrückt. Das richtige dürfte es indessen sein, die molaren Konzentrationen zu vergleichen. In molaren Konzentrationen ausgedrückt, ist die Wirkung des Deuteroalkohols $\frac{0{,}217}{0{,}196} = 1{,}1$ mal stärker als die Wirkung des Äthylalkohols auf Acanthophacelus reticulatus. Der Unterschied zwischen den zwei Mittelwerten darf als signifikant betrachtet werden, da der Unterschied zwischen den zwei Mittelzahlen (0,217 — 0,195) nahezu dreimal größer ist als der Mittelfehler der Differenz.

Tabelle 1. Narkotische Wirkung von Äthylalkohol auf Acanthophacelus reticulatus.

$[C_2H_5OH]$ in %	$[C_2H_5OH]$ in mol.	Narkose nach 4 Std.	$\frac{(p_1 + p_2)\,d}{2}$	$\left[\left(\frac{p\,q}{n}\right)d^2\right]10^6$
0,77	0,167	0 von 20		
0,80	0,174	6 „ 20	0,0030	4,20
0,84	0,182	7 „ 20	0,0065	4,55
0,88	0,191	5 „ 20	0,0060	3,75
0,92	0,200	9 „ 20	0,0070	4,95
0,97	0,211	12 „ 20	0,0105	4,80
1,01	0,219	9 „ 20	0,0105	4,95
1,06	0,230	16 „ 20	0,0125	3,20
1,11	0,241	14 „ 20	0,0150	4,20
1,16	0,252	18 „ 20	0,0160	1,80
1,22	0,265	20 „ 20		

$$\text{ND } 50 = 1{,}00\,\% = 0{,}217 \text{ mol.}$$
$$\log \text{ND } 50 = \frac{0{,}0000}{1{,}3365} \pm 0{,}0060.$$

Tabelle 2. Narkotische Wirkung von Deuteroalkohol auf Acanthophacelus reticulatus.

$[C_2D_5OD]$ in %	$[C_2D_5OD]$ in mol.	Narkose nach 4 Std.	$\frac{(p_1 + p_2)\,d}{2}$	$\left[\left(\frac{p\,q}{n}\right)d^2\right]10^6$
0,80	0,154	0 von 20		
0,84	0,161	3 „ 20	0,0015	2,55
0,88	0,169	5 „ 20	0,0040	3,75
0,92	0,177	10 „ 20	0,0075	5,00
0,97	0,186	9 „ 20	0,0095	4,95
1,01	0,194	11 „ 20	1,0100	4,95
1,06	0,203	16 „ 20	0,0135	3,20
1,11	0,213	14 „ 20	0,0150	4,20
1,16	0,223	16 „ 20	0,0150	3,20
1,22	0,234	20 „ 20		

$$\text{ND } 50 = 1{,}02\,\% = 0{,}196 \text{ mol.}$$
$$\log \text{ND } 50 = \frac{0{,}0086}{1{,}2923} \pm 0{,}0056.$$
$$m_{\text{diff.}} = 0{,}0084.$$

Versuche mit Süßwassermilben, Piona carnea (Koch).

10–20 Milben werden in 25 cm³ Alkohollösung eingebracht. Bei diesen Tieren muß die Beobachtungszeit erheblich verlängert werden, da die Alkoholwirkung erst nach vielen Stunden ihren Höhepunkt erreichte. Aus praktischen Gründen ist die Beobachtungszeit daher zu 24 Stunden gewählt worden. Konzentrationen und Wirkung gehen aus den Tabellen 3 und 4 hervor. Die Milben werden als narkotisiert angesehen, wenn sie in die Rückenlage gebracht, sich nicht aus eigener Kraft umdrehen können. Die Temperatur in der Alkohollösung betrug ungefähr 20° C.

Tabelle 3. Narkotische Wirkung von Äthylalkohol auf Piona carnea.

$[C_2H_5OH]$ in %	$[C_2H_5OH]$ in mol.	Narkose nach 24 Std.	$\frac{(p_1+p_2)d}{2}$	$\left[\left(\frac{pq}{n}\right)d^2\right]10^6$
1,59	0,345	0 von 35		
1,66	0,360	3 „ 35	0,0009	0,94
1,74	0,378	6 „ 35	0,0016	1,61
1,82	0,395	8 „ 35	0,0040	2,02
1,91	0,414	10 „ 35	0,0052	2,35
2,00	0,434	22 „ 35	0,0091	2,67
2,09	0,453	19 „ 35	0,0117	2,84
2,19	0,475	19 „ 35	0,0108	2,84
2,29	0,497	31 „ 35	0,0143	1,12
2,40	0,521	32 „ 35	0,0180	0,94
2,51	0,545	35 „ 35		

$$\text{ND } 50 = 2{,}11\,\% = 0{,}458 \text{ mol.}$$

$$\log \text{ND } 50 = \frac{0{,}3243}{1{,}6609} \pm 0{,}0042.$$

Tabelle 4. Narkotische Wirkung von Deutero-Alkohol auf Piona carnea.

$[C_2D_5OD]$ in %	$[C_2D_5OD]$ in mol.	Narkose nach 24 Std.	$\frac{(p_1+p_2)d}{2}$	$\left[\left(\frac{pq}{n}\right)d^2\right]10^6$
1,45	0,278	0 von 35		
1,51	0,290	5 „ 35	0,0014	1,38
1,59	0,305	7 „ 35	0,0034	1,83
1,66	0,319	11 „ 35	0,0050	2,44
1,74	0,334	15 „ 35	0,0074	2,80
1,82	0,349	23 „ 35	0,0110	2,57
1,91	0,367	29 „ 35	0,0150	1,61
2,00	0,384	27 „ 35	0,0160	2,02
2,09	0,401	32 „ 35	0,0168	0,94
2,19	0,420	31 „ 35	0,0180	1,12
2,29	0,440	32 „ 35	0,0180	0,94
2,40	0,461	35 „ 35		

$$\text{ND } 50 = 1{,}85\,\% = 0{,}355 \text{ mol.}$$

$$\log \text{ND } 50 = \frac{0{,}2672}{1{,}5502} \pm 0{,}0042.$$

$$m_{\text{diff.}} = \pm 0{,}0067.$$

Die Ergebnisse der Tabellen 3 und 4 zeigen deutlicher als bei den Fischen einen stärkeren narkotischen Effekt bei Deutero-Alkohol als bei Äthylalkohol. Die Wirkung des Deutero-Alkohols ist $\frac{2{,}11}{1{,}85} = 1{,}1$mal stärker als die Wirkung des Äthylalkohols auf Piona carnea, wenn die mittleren narkotischen Konzentrationen in Gewichtsprozenten ausgedrückt werden und $\frac{0{,}458}{0{,}355} = 1{,}3$mal stärker, wenn sie in molaren Konzentrationen ausgedrückt wird. Der Unterschied ist signifikant, da der Unterschied zwischen den beiden Mittelzahlen (0,458 — 0,355) mehr als 15mal größer ist als der Mittelfehler der Differenz.

Versuche mit Mückenlarven, Corethra plumicornis.

10—15 Larven werden in 10 cm³ Alkohollösung eingebracht. Aus dem nämlichen Grund wie bei den Milben wurde die Beobachtungszeit auf 24 Stunden festgelegt. Konzentrationen und Wirkung sind aus den Tabellen 5 und 6 ersichtlich. Die Mückenlarven werden als narkotisiert betrachtet, wenn bei mechanischer Reizung keine der charakteristischen ruckweisen Schwimmbewegungen mehr ausgelöst werden. Die Temperatur in den Alkohollösungen war ungefähr 18° C.

Die Ergebnisse der Mückenlarvenversuche in Tabelle 5 und 6 zeigen, übereinstimmend mit den Verhältnissen bei den Fischen und Wassermilben, eine stärkere narkotische Wirkung von Deutero-Alkohol als von Äthylalkohol. Auf Gewichtsprozentkonzentrationen berechnet, ist die Wirkung

Tabelle 5.

Narkotische Wirkung von Äthylalkohol auf Corethra plumicornis.

$[C_2H_5OH]$ in %	$[C_2H_5OH]$ in mol.	Narkose nach 24 Std.	$\frac{(p_1 + p_2)\,d}{2}$	$\left[\left(\frac{p\,q}{n}\right)d^2\right]10^6$
2,51	0,545	0 von 50		
2,75	0,597	2 „ 50	0,0008	1,23
3,02	0,656	12 „ 50	0,0056	5,84
3,31	0,718	15 „ 50	0,0108	6,72
3,63	0,788	17 „ 50	0,0128	7,18
3,98	0,864	19 „ 50	0,0144	7,55
4,37	0,948	27 „ 50	0,0184	7,95
4,79	1,04	32 „ 50	0,0236	7,37
5,25	1,14	34 „ 50	0,0264	6,96
5,75	1,25	40 „ 50	0,0296	5,12
6,31	1,37	45 „ 50	0,0340	2,88
6,92	1,50	50 „ 50		

$$\text{ND } 50 = 4{,}61\,\% = 1{,}00 \text{ mol.}$$
$$\log \text{ND } 50 = \frac{0{,}6637}{0{,}0000} \pm 0{,}0077.$$

Tabelle 6.

Narkotische Wirkung von Deuteroalkohol auf Corethra plumicornis.

$[C_2D_5OD]$		Narkose nach 24 Std.	$\frac{(p_1 + p_2)\,d}{2}$	$\left[\left(\frac{p\,q}{n}\right) d^2\right] 10^6$
in %	in mol.			
2,00	0,384	0 von 50		
2,19	0,420	5 „ 50	0,0020	2,88
2,40	0,461	14 „ 50	0,0076	6,45
2,63	0,505	19 „ 50	0,0132	7,54
2,88	0,553	25 „ 50	0,0176	8,00
3,16	0,606	26 „ 50	0,0204	7,99
3,47	0,666	31 „ 50	0,0228	7,54
3,80	0,730	36 „ 50	0,0268	6,45
4,17	0,801	42 „ 50	0,0312	4,30
4,57	0,878	44 „ 50	0,0344	3,38
5,01	0,962	48 „ 50	0,0368	1,23
5,50	1,06	50 „ 50		

$$\text{ND } 50 = 3{,}37\,\% = 0{,}647 \text{ mol.}$$

$$\log \text{ND } 50 = \frac{0{,}5276}{1{,}8096} \pm 0{,}0076.$$

$$m_{\text{diff.}} = \pm 0{,}0108.$$

$\frac{4{,}61}{3{,}37} = 1{,}3$mal stärker und auf molare Konzentrationen berechnet $\frac{1{,}00}{0{,}647}$ = 1,6mal stärker bei Deutero-Alkohol als bei Äthylalkohol gegenüber Corethra plumicornis. Der Unterschied zwischen den Mittelzahlen (1,00 — 0,647) ist ungefähr 33mal größer als der Mittelfehler der Differenz.

Zusammenfassung.

Es sind vergleichende Untersuchungen über den narkotischen Effekt von Äthylalkohol und Deutero-Alkohol (C_2D_5OD) bei Fischen (Acanthophacelus reticulatus), Süßwassermilben (Piona carnea) und Mückenlarven (Corethra plumicornis) ausgeführt worden. In allen drei Untersuchungsserien hatte Deutero-Alkohol eine stärkere narkotische Wirkung als Äthylalkohol. Bei Fischen findet man die Wirkung 1,1mal stärker (20 Fische für jede Konzentration), bei Wassermilben 1,3mal stärker (35 Milben für jede Konzentration) und bei Mückenlarven 1,6mal stärker (50 Larven für jede Konzentration) bei Verwendung von Deutero-Alkohol als mit Äthylalkohol, wobei die jeweilige mittlere narkotische Dosis in molaren Konzentrationen ausgedrückt ist.

Aus der Experimentell-Therapeutischen Abteilung (Leiter: Prof. Dr. R. Prigge) des Staatl. Instituts für Experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Otto).

Methoden der Wertbemessung biologisch wirksamer Substanzen*.

Von

R. Prigge und W. Schäfer.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. September 1938.)

I.

Zahlreiche biologisch aktiven Substanzen können mit hinreichender Genauigkeit titriert werden, indem man die Grenze zwischen den im Tierversuch „wirksamen" und den „unwirksamen" Dosen mit Hilfe des einfachen Reihenversuchs, d. h. durch Prüfung abgestufter Mengen an je einem Tier ermittelt. Diese Grenze ist zwar nicht völlig scharf, weil die Versuchstiere nicht völlig gleichartig reagieren und weil man daher zur Erzielung eines bestimmten Effektes (z. B. des Todes) beim einen Tier etwas mehr, beim anderen etwas weniger von der geprüften Substanz benötigt. Aber dieser Umstand spielt keine wesentliche Rolle, wenn der Unterschied zwischen der für alle Tiere wirksamen und der für alle Tiere unwirksamen Dosis nicht allzu groß ist. Dagegen läßt sich eine den Anforderungen der Praxis genügende Meßgenauigkeit nicht mehr erzielen, wenn die individuellen Unterschiede zwischen den Versuchstieren so groß sind, daß diese beiden Dosen um mehr als 10% auseinanderliegen (Prigge und Hartoch[1], Prigge[2]). Die erwähnte „Grenze" wird alsdann so unscharf, daß der Unterschied zwischen den beiden Dosen nicht mehr vernachlässigt werden kann. Da beim einzelnen Tier, das mit einer mittleren Dosis behandelt wird, die erwartete Wirkung — je nach seinem individuellen Reaktionsvermögen — auftreten oder ausbleiben kann und da es infolgedessen seine Bedeutung als „Indikator" verliert, müssen die Titrationen mit gleichartig zusammengesetzten Tier-Kollektiven durchgeführt werden. Hinreichend große, dem gleichen Grundmaterial ohne Auslese entnommene Kollektive (Fechner[3]) zeigen in ihrem Verhalten gegenüber

* Wir haben das Manuskript unserer Arbeit zwei hervorragenden Kennern des in ihr mehrfach berührten mathematischen Spezialgebietes, den Herren Prof. Dr. B. L. van der Waerden, Leipzig, und Dr. H. v. Schelling, Berlin, vorgelegt und möchten ihnen für die zahlreichen wertvollen Anregungen, die sie uns gegeben haben, auch an dieser Stelle unseren Dank aussprechen.

[1] Prigge, R., u. O. Hartoch: Arb. a. d. Staatsinst. f. exper. Therapie u. d. Georg-Speyer-Hause zu Frankfurt a. M. **23**, 1 (1930). — [2] Prigge, R.: Z. f. Hyg. **119**, 186 (1937). — [3] Fechner, Th.: Kollektivmaßlehre. Leipzig 1897.

gleichen Einwirkungen weitgehende Übereinstimmung; man gewinnt mit ihrer Hilfe gewisse Maßzahlen (Durchschnittswerte, Prozentzahlen), die den angewandten Dosen in gesetzmäßiger Weise zugeordnet sind. Indem man diese Maßzahlen als Funktion der Dosis graphisch darstellt, gewinnt man sogenannte „Wirkungskurven", die für die untersuchte Droge und für das zur Untersuchung benutzte Tiermaterial charakteristisch sind.

Besondere Wichtigkeit haben die ∫-förmigen Wirkungskurven erlangt, die den Prozentsatz der positiv reagierenden (z. B. der getöteten) Tiere als Funktion der Dosis wiedergeben. Es ist das Verdienst von Kisskalt[4], diese Kurven als „Aufzählungskurven" (d. h. als integrierte Häufigkeitskurven) erkannt zu haben; er hat bereits im Jahre 1915 gezeigt, daß man mit Hilfe dieser Kurven in elementarer Weise feststellen kann, wie die Individuen eines Tiermaterials nach ihrem Reaktionsvermögen bzw. nach der individuell wirksamen Dosis zu klassifizieren sind. Erst sehr viel später sind Shackell und seine Mitarbeiter[5], de Lind van Wijngaarden[6], Wiechowski[7] und Trevan[8] zu dem gleichen Ergebnis gelangt. Es darf aber nicht übersehen werden, daß die Kurven, welche einen Durchschnittswert, z. B. den mittleren Antitoxintiter der mit einer bestimmten Antigendosis immunisierten Tiere, als Funktion der angewandten Dosis darstellen, nicht als Aufzählungskurven anzusehen sind (Prigge[9, 10]).

II.

Die als Aufzählungskurven gewonnenen Wirkungskurven bzw. die aus ihnen abgeleiteten Verteilungskurven sind im allgemeinen keine „normalen", d. h. dem Gaußschen Fehlergesetz entsprechenden Kurven; sie zeigen vielmehr eine beträchtliche „Schiefheit". Jedoch hat bereits Fechner[3] gezeigt, daß die Schiefheit biologischer Verteilungen in zahlreichen Fällen durch Anwendung eines logarithmischen Abszissenmaßstabes beseitigt werden kann. Auf Grund dieser Erkenntnis konnten zahlreiche Autoren eine Normalverteilung biologischer Merkmale nachweisen, die von vornherein nicht erkennbar war (Kapteyn[11], Karsten[12], Wiechowski[7], Krogh und Hemmingsen[13], Trevan[14], Prigge[2]

[4] Kisskalt, K.: Z. f. Hyg. **81**, 42 (1915). — [5] Shackell, L. F., W. Williamson, M. M. Deitschmann, G. M. Katzmann u. B. S. Kleinman: J. of Pharm. and exper. Ther. **24**, 53 (1925). — [6] de Lind van Wijngaarden, C.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **113**, 40 (1926). — [7] Wiechowski, W.: Verh. d. dtsch. Pharm. Ges., 7. Tagung, 21.—23. 9. 1927, Würzburg; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **128**, 135 (1928). — [8] Trevan, J. W.: Proc. of the Royal Soc., B. **101**, 483 (1927). — [9] Prigge, R.: Arb. a. d. Staatsinst. f. exper. Ther. u. d. Georg-Speyer-Hause zu Frankfurt a. M. **32**, 1 (1935). — [10] Prigge, R.: Dtsch. med. Wschr. **1937**, S. 1478. — [11] Kapteyn, J.: Skew frequency curves in biology and statistics. Groningen 1904. — [12] Karsten, K. G.: Charts and graphs, 2. Aufl., New York, Prentice-Hall inc. 1925. — [13] Krogh, A., u. A. M. Hemmingsen: Det Kgl. Danske Videnskabernes Selskab, Biologiske Meddelelser **7** (1928). — [14] Trevan, J. W.: J. of Path. a. Bact. **32**, 127 (1929).

u. a.). Ferner konnte Schäfer[15] zeigen, daß die Normalverteilung der Logarithmen der zur Erreichung eines bei allen Tieren gleichen Effektes erforderlichen Dosen in engem Zusammenhang mit der Normalverteilung der durch eine für alle Tiere gleiche Dosis erzielten Effekte steht und durch das Weber-Fechnersche psycho-physische Grundgesetz bedingt ist; der von Hemmingsen[16] unternommene Versuch, einen Zusammenhang zwischen der Normalverteilung der Dosenlogarithmen und dem sogenannten Weberschen Gesetz aufzuweisen, hat sich dagegen als irrig erwiesen (Prigge[9]).

Sofern eine Normalverteilung vorliegt, genügt zur Konstruktion der Wirkungskurve (Aufzählungskurve) jedes Präparats die experimentelle Ermittlung von nur zwei Punkten (x, p'); denn durch zwei Punkte läßt sich nur eine Kurve von der Form

$$p' = \frac{1}{\mu\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{x} e^{-\frac{(x-x_0)^2}{2\mu^2}} dx \qquad (1)$$

legen.

Es bedeuten

$100\ p' = p$ = Prozentsatz der positiv reagierenden Individuen,

x = Logarithmus der angewandten Dosis,

x_0 = Logarithmus der Dosis, auf welche gerade 50% der Versuchstiere reagieren,

μ = mittlere Abweichung vom Werte x_0 („Streuung"), eine für das Verhalten des Tiermaterials gegenüber der untersuchten Droge charakteristische Konstante.

Es wäre sehr zeitraubend, wollte man die Aufzählungskurve jedes Präparats rechnerisch ermitteln. Auch die graphische Bestimmung ist recht umständlich. Durch einen Kunstgriff, den der amerikanische Ingenieur Hazen[17] für technische Zwecke angegeben hat und der durch Karsten[12] allgemein bekannt geworden ist, gelingt es jedoch leicht, dieser Schwierigkeit Herr zu werden. Bei Anwendung des Hazenschen Verfahrens geht die Aufzählungskurve in eine Gerade über, die im folgenden als Hazensche Gerade bezeichnet wird.

Hazen führt an Stelle des Prozentsatzes bzw. an Stelle von p' eine Größe y als abhängige Variable ein, welche sich aus der Gleichung

$$p' = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{y} e^{-\frac{y^2}{2}} dy \qquad (2)$$

[15] Schäfer, W.: Arb. a. d. Staatsinst. f. exper. Ther. u. d. Georg-Speyer-Hause zu Frankfurt a. M. **32**, 51 (1932). — [16] Hemmingsen, A. M.: Quart. J. Ph. a. Pharmacol. **6**, 70 (1933). — [17] Hazen, A.: Transact. of the Americ. Soc. of Civ. Engineers **77**, 1539 (1914).

ergibt. Durch Elimination von p' aus Gleichung (1) und (2) erhält man zwischen x und y die sehr einfache lineare Beziehung

$$y = \frac{x - x_0}{\mu}. \tag{3}$$

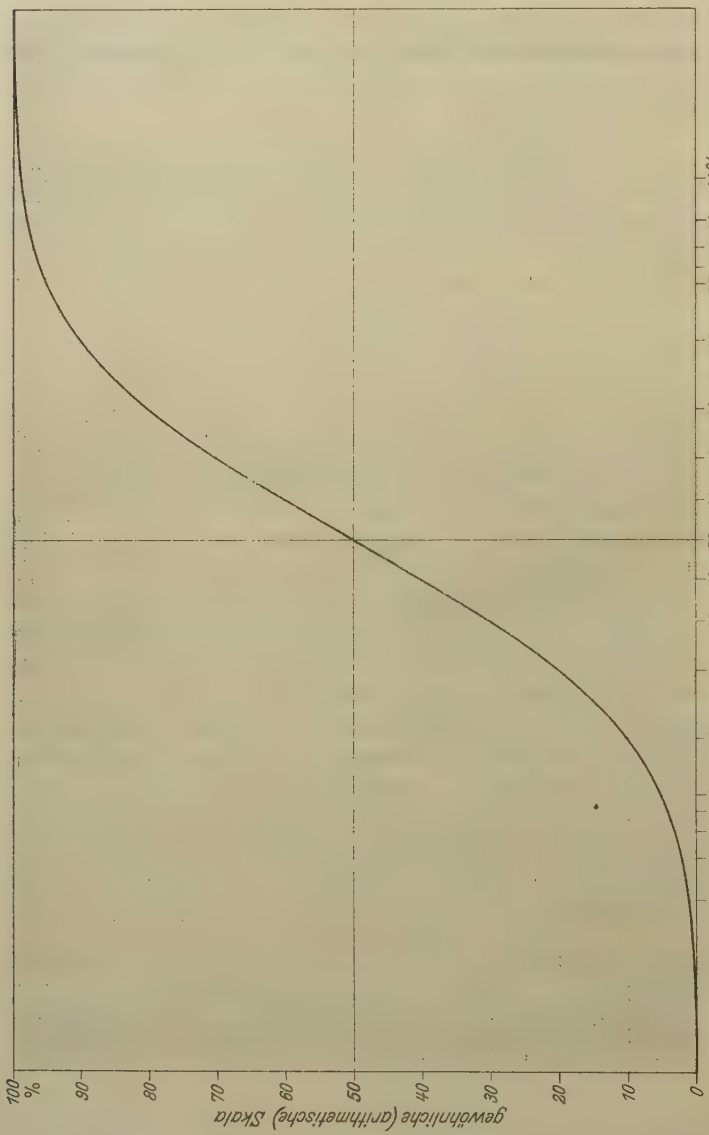


Abb. 1. Konstruktion der Hazenschen Prozentsatzskala.

Vorteilhafter als die unmittelbare Rechnung mit y ist die Transformation der p-Skala. Die Prozentsätze werden in der Ordinatenachse in der Weise abgetragen, wie die entsprechenden y-Werte eingezeichnet werden müßten; ausgehend

von $p = 50$, weichen also Prozentsätze, die sich um den gleichen Betrag unterscheiden, immer weiter auseinander. Auch graphisch läßt sich die Transformation der p-Skala leicht durchführen, wie Karsten sehr anschaulich in seinem Werk „Charts and Graphs" beschrieben hat. Lediglich die Konstruktion einer normalen Aufzählungskurve ist erforderlich; sie ist mit Hilfe einer Tabelle des Gaußschen Integrals zu bewerkstelligen*. Man braucht dann nur noch die Schnittpunkte der p-Ordinaten mit der Kurve auf die Abszissenachse zu projizieren (Abb. 1). Diese einfache geometrische Konstruktion zeigt sehr schön, wie die Prozentsatzskala von der Mitte (50%) aus nach beiden Seiten hin gedehnt wird. Die beiden Endpunkte 0 und 100% rücken, wie die Pole bei der Merkatorschen Erdprojektion, ins Unendliche.

In Amerika ist unter dem Namen „logarithmic probability paper" schon seit mehr als 20 Jahren ein Papier im Handel, dessen Ordinatenachse nach der durch den Hazenschen Kunstgriff gereckten Prozentsatzskala und dessen Abszissenachse logarithmisch geteilt ist. Solches Papier ist unter dem Namen „logarithmisches Wahrscheinlichkeitspapier" vor kurzem auch in Deutschland in den Handel gebracht worden (Schleicher & Schüll, Nr. $297^1/_2$ A 3). Um mit Hilfe dieses Papiers die Wirkungskurve in Form der Hazenschen Geraden konstruieren zu können, braucht man nur die angewandten Dosen als Abszissen und die gefundenen Prozentsätze als Ordinaten einzutragen und durch die so ermittelten Punkte eine Gerade hindurchzulegen. Die Wirksamkeit jedes Präparats wird im Vergleich mit einem Maßpräparat (Standardpräparat) gemessen: Man hat die Wirkungsgerade des Standardpräparats und des zu prüfenden Präparats zu bestimmen und ermittelt hieraus Dosen von gleicher Wirksamkeit, deren Quotient ohne weiteres das Wertigkeitsverhältnis der verglichenen Präparate ergibt. Da die Wirkungskurven bzw. die Wirkungsgeraden gleichartiger Präparate parallel verlaufen, ergibt sich für Werte mit gleicher Ordinate als Quotient der zugehörigen Dosen im gesamten Kurvenbereich der gleiche Wert. Wird eine der Wirkungsgeraden durch Ermittlung von zwei oder mehr Punkten bestimmt, so genügt zur Bestimmung der zweiten ein Punkt, durch den eine Parallele zur ersten Geraden zu ziehen ist. Wird immer das gleiche Tiermaterial verwandt, so zeigen die Wirkungsgeraden stets die gleiche Neigung; man kommt dann für beide Geraden mit je einem Punkt aus.

Die Notwendigkeit, ein Maßpräparat zu verwenden, ergibt sich aus dem Umstande, daß die Versuchstiere — auch wenn sie dem gleichen Zuchtmaterial entnommen werden — zu verschiedenen Zeiten auf gleiche Reize verschieden reagieren. Dies gilt sogar für sogenannte „reine Linien" bzw. für Tiere, die durch jahrelang fortgesetzte Bruder-Schwester-Inzucht gewonnen sind (Prigge[2]). Die durch eine bestimmte Dosis eines stabilen Präparats hervorgerufene Wirkung unterliegt also mehr oder minder großen Schwankungen; und zur Erzielung eines bestimmten Effektes, z. B. zur Tötung von 50% der Versuchstiere, benötigt

* Zu empfehlen ist das kleine „Handbuch der math. Statistik" von Rietz-Baur, das eine sehr brauchbare Tabelle des Wahrscheinlichkeitsintegrals in der Form der Gleichung (2) zugleich mit den gebräuchlichen Ableitungen enthält; in dieser Tabelle findet man auch den zu jedem p'-Wert gehörigen y-Wert ($y = t$).

man zu verschiedenen Zeiten verschiedene Dosen, so daß es zu einer „Verschiebung" der Wirkungskurven kommt (und zwar — bei Verwendung des gleichen Tiermaterials — zu einer Parallelverschiebung). Daher ist es — streng genommen — nicht möglich, die Maß-Einheit als Äquivalent einer bestimmten Wirkungsgröße, z. B. als die für 50% der Versuchstiere wirksame Dosis festzulegen. Die Maß-Einheit muß vielmehr in bezug auf eine bestimmte Dosis eines stabilen Maß-Präparats definiert werden; und eine exakte Messung kann nur durchgeführt werden, indem man wirkungsgleiche Mengen des geprüften und des Maß-Präparats ermittelt.

Selbstverständlich ist die Verwendung von Maßpräparaten nur dann zweckmäßig, wenn die Lage der Wirkungsgeraden ohne nennenswerten Fehler ermittelt wird, genauer: wenn die durch den Untersuchungsfehler bedingten scheinbaren Verschiebungen der Wirkungskurven gering sind im Vergleich zu den durch das Verhalten des Tiermaterials verursachten tatsächlichen Verschiebungen. Wenn aber das Gegenteilige zutrifft (z. B. bei der Durchführung von großen Reihenuntersuchungen, bei denen nur verhältnismäßig wenig Tiere für jede einzelne Titration verwandt werden können), kann die Beziehung auf ein Standardpräparat sogar zu einer Beeinträchtigung der Meßgenauigkeit führen, weil zu dem bei der Ermittlung der Wirkungskurve des geprüften Präparats zustande kommenden Fehler noch der Fehler hinzukommt, der sich bei der Bestimmung der Wirkungskurve des Standardpräparats ergibt (Prigge[18]). Falls also die durch den Versuchsfehler vorgetäuschten Verschiebungen der Wirkungskurven groß werden im Vergleich zu den tatsächlichen Verschiebungen, ist es vorteilhafter, die letzteren ganz zu ignorieren. Man hat dann so vorzugehen, als ob die Wirkungskurve des Maßpräparats stets die gleiche, etwa dem Mittel der bekannten tatsächlichen Verschiebungen entsprechende Lage hätte, und hat die mit den geprüften Präparaten gewonnenen Ergebnisse hierauf zu beziehen. Sofern für die betreffende Drogenart eine Maßeinheit in bezug auf ein Standardpräparat noch nicht festgelegt ist, läßt sich die Maßeinheit für provisorische Untersuchungen auch unmittelbar als Äquivalent einer bestimmten Wirkungsgröße, z. B. als die für einen gewissen Prozentsatz der Versuchstiere wirksame Dosis definieren; nur darf man nicht außer acht lassen, daß dieser Definition kein scharfer Wert entspricht. Auf Vergleichsuntersuchungen mit einem stabilen Präparat kann aber niemals verzichtet werden, da unerwartet auftretende größere Schwankungen in der Empfindlichkeit der Versuchstiere, die nicht unberücksichtigt bleiben dürfen, nur auf diesem Wege festgestellt werden können.

III.

Wird die Wirkungsgerade eines Präparats mit nur zwei Punkten bestimmt, so hat man diese lediglich zu verbinden. Stehen mehr als zwei Punkte zur Bestimmung der Wirkungsgeraden zur Verfügung, so ist eine Ausgleichung vorzunehmen, da die gefundenen Punkte mehr oder weniger von der theoretischen Geraden abweichen werden. Die Ausgleichung kann nach der Methode der kleinsten Quadrate rechnerisch vorgenommen werden, was bei Verwendung der ursprünglichen ∫-förmigen Aufzählungskurve numerisch undurchführbar wäre. Die für die Berechnung der Beziehungsgeraden notwendigen Formeln sind aus der Korrelationsrechnung bekannt (vgl. Rietz-Baur, 1930, S. 161). Hier wie dort handelt es sich darum, eine Gerade möglichst nahe an einer Anzahl in einer Ebene verstreuter Punkte vorbeizuführen. In der Korrelationsrechnung gibt es

[18] Prigge, R.: Z. f. Immunitätsforsch. **91**, 457 (1937).

stets zwei Beziehungsgeraden, was dadurch bedingt ist, daß man sowohl die Spaltenmittel als auch die Zeilenmittel als die gegebene Punktmenge auffassen kann. Im vorliegenden Falle dagegen gibt es nur eine Punktmenge, und zwar die den Kolonnenmitteln entsprechende; denn nur die y-Werte sind einer Streuung unterworfen, während die x-Werte eindeutig gegeben, also nicht mit einem „Fehler" behaftet sind. Demgemäß ist auch nur eine Beziehungsgerade möglich, nämlich die von „y in bezug auf x". Zu ihrer Bestimmung sind zunächst die „gewogenen Mittel" zu berechnen:

$$\bar{x} = \frac{\Sigma\, g_i x_i}{\Sigma\, g_i}, \tag{4}$$

$$\bar{y} = \frac{\Sigma\, g_i y_i}{\Sigma\, g_i}. \tag{5}$$

Hierin bedeuten die Größen g_i die „Gewichte", die man den „Beobachtungen" x_i, y_i zuzuschreiben hat: Man hat jeden Punkt sovielmal in Rechnung zu setzen, wie sein „Gewicht" angibt. Mit Hilfe der gewogenen Mittel $\bar{x}$ und $\bar{y}$ findet man den Richtungskoeffizienten der Hazenschen Geraden, d. h. den Tangens des Winkels, den die Gerade mit der x-Achse bildet:

$$R = \frac{\Sigma\, g_i y_i\, (x_i - \bar{x})}{\Sigma\, g_i (x_i - \bar{x})^2}. \tag{6}$$

Formel (6) folgt aus der Forderung, daß die Summe der Quadrate der Abweichungen sämtlicher Punkte (unter Berücksichtigung ihrer Gewichte) von der Beziehungsgeraden ein Minimum sein soll. Es sei y_i' die Ordinate des Schnittpunktes der Beziehungsgeraden mit der durch x_i, y_i gelegten Parallelen zur y-Achse. Die Forderung lautet dann, die Größe

$$\Delta^2 = \Sigma\, g_i\, (y_i - y_i')^2$$

zu einem Minimum zu machen. Die Beziehungsgerade möge die Gleichung

$$y = Rx + b$$

haben. x_i, y_i' ist ein Punkt der Geraden:

$$y_i' = R x_i + b.$$

Es ist also

$$\Delta^2 = \Sigma\, g_i\, (y_i - R x_i - b)^2.$$

Die Bedingungen dafür, daß Δ^2 ein Minimum wird, lauten:

$$\frac{\partial\, \Delta^2}{\partial\, b} = 0, \qquad \frac{\partial\, \Delta^2}{\partial\, R} = 0.$$

Die erste Bedingung liefert die Gleichung:

$$R \Sigma\, g_i x_i + b\, \Sigma\, g_i - \Sigma\, g_i y_i = 0,$$

$$b = \frac{\Sigma\, g_i\, y_i}{\Sigma\, g_i} - R\, \frac{\Sigma\, g_i\, x_i}{\Sigma\, g_i} = \bar{y} - R\, \bar{x}.$$

Setzt man diesen Wert für b in die Gleichung der Geraden ein, so erhält man

$$y = R(x - \bar{x}) + \bar{y},$$

d. h. der Punkt $\bar{x}$, $\bar{y}$ ist ein Punkt der Geraden.

Wir differentiieren nun die Gleichung

$$\Delta^2 = \Sigma g_i [y_i - R(x_i - \bar{x}) - \bar{y}]^2$$

nach R und setzen gleich Null:

$$R \Sigma g_i (x_i - \bar{x})^2 - \Sigma g_i y_i (x_i - \bar{x}) + \bar{y} \Sigma g_i (x_i - \bar{x}) = 0.$$

Da nach (4) $\Sigma g_i (x_i - \bar{x}) = 0$ ist, so ergibt sich hieraus unmittelbar die Formel (6).

Es läßt sich auf elementarem Wege leicht bestätigen, daß Δ^2 tatsächlich zu einem Minimum wird. Wir bringen zunächst den Ausdruck für Δ^2 in die Form

$$\Delta^2 = \Sigma g_i y_i^2 + R^2 \Sigma g_i (x_i - \bar{x})^2 + \bar{y}^2 \Sigma g_i - 2 R \Sigma g_i y_i (x_i - \bar{x}) + 2 \bar{y} R \Sigma g_i (x_i - \bar{x}) - 2 \bar{y} \Sigma g_i y_i.$$

Das vorletzte Glied verschwindet wegen $\Sigma g_i (x_i - \bar{x}) = 0$. Die Glieder ohne R haben keinen Einfluß auf die Änderung der Funktion. Wir bilden deshalb aus den beiden noch übrigen Gliedern mit R eine neue Funktion

$$f(R) = R^2 \Sigma g_i (x_i - \bar{x})^2 - 2 R \Sigma g_i y_i (x_i - \bar{x}),$$

die mit Δ^2 zugleich zu einem Minimum wird. Nun haben wir nur noch nachzuweisen, daß $f(R + \varepsilon) > f(R)$ ist, worin ε eine von Null verschiedene Größe ist:

$$f(R + \varepsilon) = f(R) + 2 R \varepsilon \Sigma g_i (x_i - \bar{x})^2 - 2 \varepsilon \Sigma g_i y_i (x_i - \bar{x}) + \varepsilon^2 \Sigma g_i (x_i - \bar{x})^2.$$

Setzen wir in diesen Ausdruck für R seinen Wert aus Gleichung (6) ein, so erhalten wir

$$f(R + \varepsilon) = f(R) + \varepsilon^2 \Sigma g_i (x_i - \bar{x})^2 > f(R).$$

Die Schwierigkeit, die noch zu beheben ist, ist die Bestimmung des Gewichtes g. Gaddum[19] wendet zur Durchführung der Ausgleichsrechnung als Gewicht für den beobachteten Anteil P' den Wert $\frac{n}{P'(1 - P')}$ an.

Irrtümlicherweise wird Gaddum als Begründer des Hazenschen Verfahrens angesehen. Die Arbeit von Gaddum ist jedoch erst 19 Jahre nach Hazens Publikation erschienen. Der Irrtum rührt daher, daß Gaddum Hazen nur beiläufig erwähnt, ohne ihn als Entdecker des Verfahrens zu nennen, und daß er auch nicht auf Karsten hinweist, durch den das Verfahren allgemein bekannt geworden ist; Gaddum behandelt nur das „logarithmic probability paper" der Codex Book Co. Inc. (New York). Auch die Gewichtsmethode stammt nicht etwa von Gaddum, sondern ist bereits 1910 in allen wesentlichen Punkten von Urban[25] beschrieben und begründet worden (l. c. **16**, 169—183). In Urbans Verfahren ist implizite auch schon der Hazensche Kunstgriff enthalten, wenn Urban auch nicht ausdrücklich darauf hinweist, daß die von ihm verwandte Transformation auf eine Gerade führt. Aus der Arbeit von Urban geht klar hervor, daß die gesamten Grundlagen für die Lösung der hier behandelten Probleme von Fechner geschaffen sind.

Es sei übrigens betont, daß der Hazensche Kunstgriff nicht, wie Behrens und Kärber[20] glauben, die Verwendung geringerer Tierzahlen ermöglicht, als bei

[19] Gaddum, J. H.: Special report series, Medical research Council, **183**, 5 (1933). — [20] Behrens, B., u. G. Kärber: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 379 (1935).

der Benutzung der gewöhnlichen $\int$-förmigen Wirkungskurve erforderlich sind. Es handelt sich lediglich um eine mathematische Transformation, also biologisch betrachtet um die gleiche Methode, deren Genauigkeit durch die Zahl der Versuchstiere einerseits und durch die Lage der beobachteten Prozentsätze andererseits bestimmt wird.

Gaddum kam zu seiner Gewichtsbestimmung dadurch, daß er das bei der Ausgleichsrechnung nach der Methode der kleinsten Quadrate als Gewicht fungierende Präzisionsmaß $h^2 = 1/2\,\sigma^2$ bzw. den Wert $1/\sigma^2$, also den reziproken Wert des Quadrates des sogenannten „mittleren Fehlers" (σ), zugrunde legte. Dabei ist zu bedenken, daß das Präzisionsmaß h^2 eine normale (Gaußsche) Verteilung voraussetzt. Da für den Anteil der positiv reagierenden Individuen zweifellos eine Bernoullische Verteilung vorauszusetzen ist und da die Bernoullische Verteilung innerhalb gewisser Schranken eine Normalverteilung hinreichend gut annähert, könnte man — wenigstens innerhalb dieser Schranken* — mit Gaddum das Gewicht durch die Größe $n/P'\,(1 - P')$, also durch den reziproken Wert des Quadrats des „mittleren Fehlers" der Bernoullischen Verteilung angeben, wenn P' der Wert wäre, dem dieser „Fehler" zugeordnet ist. Dies trifft jedoch keineswegs zu. Wie Prigge[22] gezeigt hat, ist es nicht zulässig, für den beobachteten Wert P' den Ausdruck $\sqrt{P'(1-P')/n}$ als „mittleren Fehler" einzuführen, obwohl in der biologischen Literatur — auf Grund einer Verwechslung der Problemstellung — vielfach so vorgegangen wird. Es wird nicht beachtet, daß sich die Fehlerformel auf die Grundwahrscheinlichkeit p' (den „wahren Anteil") bezieht, welche dem beobachteten Wert P' zugrunde liegt; gerade der „wahre Anteil" ist aber bei der Anstellung von Tierversuchen (die stets nur mit kleinen Kollektiven, sogenannten „Stichproben" durchgeführt werden) unbekannt. Daß eine Fehlerangabe für P' in der Form $\sigma_{P'} = \sqrt{P'(1-P')/n}$ nicht richtig sein kann, geht schon aus der einfachen Überlegung hervor, daß für die Beobachtung $P' = 0$ (oder 1) der Fehler verschwinden würde, d. h. daß in jedem Falle, in dem ein Ergebnis $P = 0\,\%$ (oder $100\,\%$) aufträte, der zugrunde liegende „wahre Wert" auch tatsächlich $p' = 0$ (bzw. 1) sein müßte. Das ist aber nicht der Fall, denn auch wenn der wahre Wert p' ungleich 0 und ungleich 1 ist, kann ein Ergebnis $P = 0\,\%$ oder $P = 100\,\%$ auftreten.

Aus dem Gesagten geht hervor, daß die Gaddumsche Gewichtsbestimmung für den beobachteten Anteil P' unzulässig ist; hierauf hat bereits v. Schelling[23] nachdrücklich hingewiesen. Es kommt noch hinzu, daß beim Übergang zu Hazenschen Ordinaten mit den beobachteten

* Nach v. Schelling[21] ist zu fordern, daß

$$10 < np' < n - 10.$$

[21] v. Schelling, H.: Arb. a. d. Staatsinst. f. exper. Ther. u. d. Georg-Speyer-Hause zu Frankfurt a. M. **35**, 69 (1938). — [22] Prigge, R.: Naturwissenschaften **25**, 169 (1937). — [23] v. Schelling, H.: Dtsch. med. Wschr. **1938**, S. 827.

Punkten auch ihre Gewichte entsprechend transformiert werden müssen. Konsequenterweise müßte Gaddum die Endpunkte des Bereiches $P' \pm \sqrt{P'(1-P')/n}$ nach Gl. (2) transformieren und erhielte dann einen in Hazenschen Ordinaten asymmetrischen Bereich. Gaddum wählt aber zur Vereinfachung der Rechnung das Urbansche Näherungsverfahren[25], indem er

$$\frac{\sigma_{P'}}{\sigma_y} = \frac{d\,P'}{d\,y} \tag{7}$$

setzt. Daraus ergibt sich sein Gewicht

$$\frac{1}{\sigma_y^2} = \frac{n}{P'\,(1-P')}\left(\frac{d\,P'}{d\,y}\right)^2. \tag{8}$$

Jedoch gilt diese Beziehung mit hinreichender Genauigkeit nur für Werte P', die nicht zu nahe bei 0 oder 1 liegen.

Eine Gewichtsbestimmung, die die von Gaddum begangenen Vernachlässigungen vermeidet, ergibt sich, wenn man den von Prigge[22] angegebenen M_k-Bereich (für $k = 1$) der Gewichtsbestimmung zugrunde legt:

$$M_k = \frac{k^2\,(1-2\,P') \pm k\,\sqrt{4\,n\,P'\,(1-P') + k^2}}{2\,(n+k^2)}. \tag{9}$$

Der Index k gibt an, auf welches Vielfache des „mittleren Fehlers" des unbekannten „wahren Anteiles" p' sich die gesuchte Angabe beziehen soll. Der M_k-Bereich, innerhalb dessen — für die vorgegebene, durch k gekennzeichnete Wahrscheinlichkeit — der „wahre Wert" zu suchen ist, liegt asymmetrisch zu P', jedoch wird diese Asymmetrie beim Übergang zu Hazenschen Ordinaten weitgehend aufgehoben. Gleichwohl soll bei der Gewichtsbestimmung für die transformierten Punkte sowohl der positive (M_k^+) wie der negative Bereichsanteil (M_k^-) berücksichtigt werden. Um den Zusammenhang mit der Methode der kleinsten Quadrate zu wahren, sei als Gewicht der reziproke Wert des Quadrats des halben M_1-Bereichs (d. h. der Hälfte der Strecke $[P' + M_1^+] - [P' + M_1^-]$) in y-Einheiten definiert.

An Stelle des M_k-Bereiches könnte man auch den von van der Waerden[24] und v. Schelling[21, 23] angegebenen, auf Grund des Bayesschen Theorems errechneten $a \pm s$-Bereich (siehe unten S. 301) verwenden. Hiergegen erheben sich jedoch folgende Bedenken:

1. Der $a \pm s$-Bereich ist auf Grund der Annahme errechnet, daß die „Ziehungen" aus mehr als einer „Urne" (und zwar aus unendlich vielen Urnen) erfolgen. Es kann aber keinem Zweifel unterliegen, daß dieses Schema den tatsächlichen Verhältnissen nicht entspricht. Die „Ziehungen" erfolgen nur aus einer „Urne" mit unbekannter Grundwahrscheinlichkeit; d. h. die Versuchstiere werden

[24] van der Waerden, L. B.: Berichte d. Sächs. Akad. d. Wiss., math.-phys. Klasse, **88**, 21 (1936). — [25] Urban, F. M.: Arch. f. Psychologie **15**, 261 (1909); **16**, 168 (1910).

jeweils nur aus einem Tiermaterial ausgewählt. Der M_k-Formel liegt ein Ein-Urnen-Schema zugrunde.

2. Der $a \pm s$-Bereich gehört nicht zu dem beobachteten P'-Wert, sondern zu dem Erwartungswert a der Bayes-Verteilung; er kann also nicht zur Bestimmung des Gewichtes von P' verwandt werden.

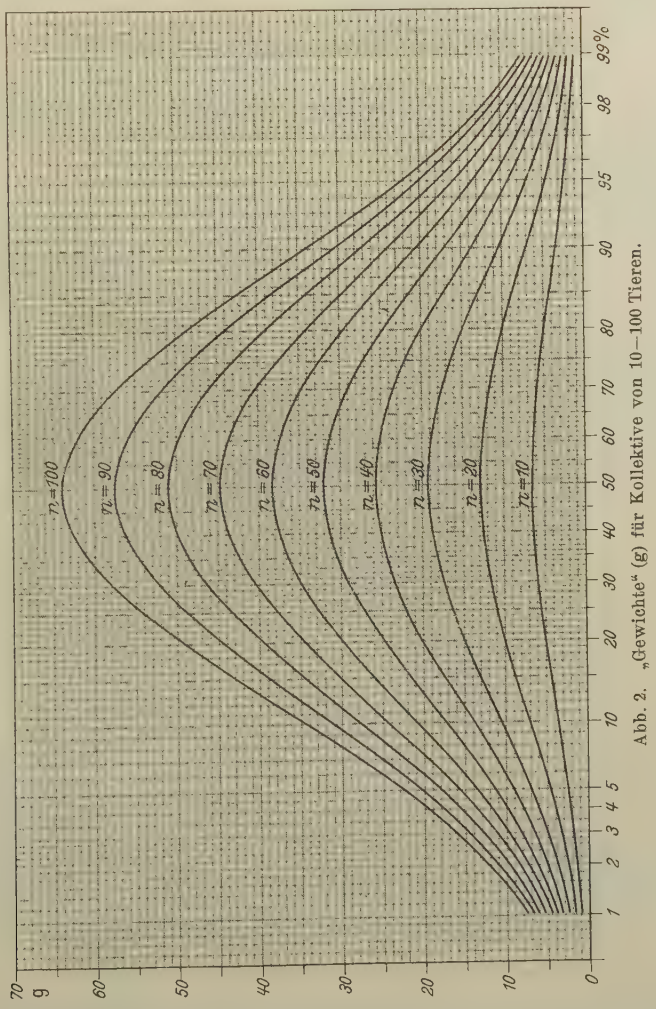


Abb. 2. „Gewichte" (g) für Kollektive von 10—100 Tieren.

3. Andererseits scheint es nicht erlaubt, die experimentell bestimmten P'-Werte durch die entsprechenden a-Werte zu ersetzen. Es wird unten (S. 301 f.) noch gezeigt, daß dieses Verfahren zu fehlerhaften Ergebnissen führen würde.

4. Während die M_k-Formel ($k = 1, 2, 3 \ldots$) stets deutbare Resultate ergibt, liefert die s-Formel für P'-Werte, die nahe bei 0 oder 1 liegen, Resultate, die sich nicht sinngemäß deuten lassen. Denn der zu $2\,s$, $3\,s$ ... gehörende Bereich schließt die Werte 0 bzw. 1 als „Ursachen" von P' nicht aus. P'-Werte, die von 0 und 1 verschieden sind, können aber nicht als „Varianten" von $p' = 0$ oder 1 auftreten. —

Da nur der durch M_k abgegrenzte Bereich sich unmittelbar auf den beobachteten Wert P' bezieht, scheint seine Verwendung zur Ermittlung der „Gewichte" am besten begründet zu sein.

Zur Bestimmung des „Gewichtes" geht man so vor, daß man zunächst die Endpunkte des M_k-Bereiches

$$P' + M_k^+ = \frac{2\,n\,P' + k^2 + k\,\sqrt{4\,n\,P'\,(1 - P') + k^2}}{2\,(n + k^2)}$$
$$P' + M_k^- = \frac{2\,n\,P' + k^2 - k\,\sqrt{4\,n\,P'\,(1 - P') + k^2}}{2\,(n + k^2)} \qquad (10)$$

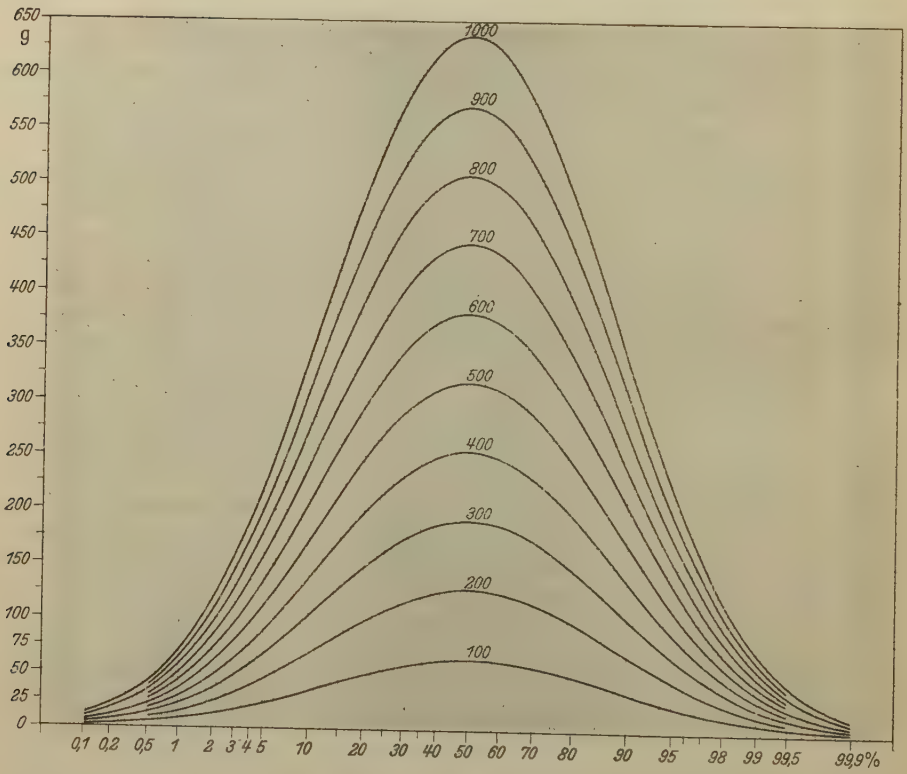


Abb. 3. „Gewichte" (g) für Kollektive von 100—1000 Tieren.

für $k = 1$ errechnet und aus einer der in allen Lehrbüchern der mathematischen Statistik enthaltenen Tabellen des Wahrscheinlichkeitsintegrals die zugehörigen y-Werte entnimmt. Der reziproke Wert des Quadrates der halben Differenz der beiden y-Werte ist das „Gewicht".

Um die Gewichtsberechnung zu ersparen, geben wir zwei Diagramme, aus denen die Gewichte für Kollektive von 10, 20, 30 usw. bis 100 (Abb. 2) und von 100, 200, 300 usw. bis 1000 Tieren (Abb. 3) direkt abgelesen werden

können. Die Abstufung von 10 zu 10 bzw. von 100 zu 100 ermöglicht ein bequemes Interpolieren. Wird z. B. das zu dem Wert $P' = 15/24$ ($P = 62{,}5\,\%$) gehörende Gewicht gesucht, so liest man zunächst die der Abszisse 62,5 zugeordneten Ordinaten für $n = 20$ und $n = 30$ ab. Es sind das die Werte 12,5 und 18,7. Die Differenz für 10 Tiere ist 6,2, für 4 Tiere also $6{,}2 \cdot 0{,}4 = 2{,}5$. Das gesuchte Gewicht ist dann $12{,}5 + 2{,}5 = 15{,}0$. Die genaue Rechnung liefert den Wert 15,01.

Die durch M_1 festgelegten Gewichte stimmen mit den Gaddumschen Gewichten verhältnismäßig gut überein*. Z. B. ist für $n = 100$ und $P' = 1/n = 0{,}01$ das nach der Gaddumschen Vorschrift berechnete Gewicht 7,1**; für den „transformierten" M_1-Bereich findet man den Wert 7,7. Diese Übereinstimmung erklärt sich aus dem Umstand, daß die beiden Fehler Gaddums einander entgegenwirken und sich weitgehend aufheben. Vermeidet man den zweiten, indem man die Endpunkte des Bereiches $P' \pm \sqrt{\frac{P'(1-P')}{n}}$ nach Gleichung (2) transformiert und den dadurch entstehenden asymmetrischen Bereich in y-Einheiten der Gewichtsbestimmung zugrunde legt, so daß als Gewicht auch wieder der reziproke Wert des Quadrates des halben Bereiches in y-Einheiten bestimmt wird, dann gelangt man zu Werten, die von den strengeren Gewichten der M_k-Methode stark abweichen: Die Endpunkte des Bereiches $0{,}01 \pm 0{,}0095$ sind $y' = -2{,}05$ und $y'' = -3{,}89$. Der reziproke Wert des Quadrates des halben Bereiches 0,92 ist 1,2. Diesen Wert müßte Gaddum konsequenterweise an Stelle seines Wertes 7,1 als Gewicht bestimmen. Hier zeigt sich die Irrtümlichkeit der Auffassung von $\sqrt{\frac{P'(1-P')}{n}}$ als „mittlerem Fehler" von P' besonders deutlich. Immerhin kann die Gaddumsche Gewichtsbestimmung als ein für praktische Zwecke ausreichendes Näherungsverfahren betrachtet werden, das vor der von uns skizzierten strengeren Gewichtsmethode jedoch nicht einmal den Vorzug der größeren Einfachheit besitzt.

Es sei darauf hingewiesen, daß auch die von uns vorgeschlagene Methode eine gewisse Willkür enthält. Zweifellos ist das „Gewicht" der Beobachtungen um so größer, je kleiner der bei ihrem Zustandekommen auftretende Fehler ist. Bezüglich der quantitativen Verteilung der Gewichte ist jedoch zu bemerken, daß sich verschiedene Abstufungen ergeben, je nachdem ob man $k = 1$, 2 oder 3 usw. wählt. Wenn wir uns für $k = 1$ entschieden haben, so deshalb, weil wir uns damit in der Größenordnung der üblichen Fehlerangabe halten und weil sich daraus eine gewisse Analogie zu der später skizzierten graphischen Methode ergibt. Herr Prof. van der Waerden hat uns darauf hingewiesen, daß sich ein von der erwähnten Willkür freies Verfahren auf Grund von Fishers „Method of maximum likelihood" entwickeln ließe; vorerst stehen jedoch für den speziellen Zweck geeignete Näherungsformeln nicht zur Verfügung.

Auch Gaddum[19] erwähnt die „Method of maximum likelihood"; er hat seine Arbeit aber nicht auf dieser Methode aufgebaut, sondern sie nur zur Nachprüfung seines ganz anders begründeten (auf den Urbanschen Untersuchungen fußenden) Gewichtsverfahrens herangezogen.

---

* Die Übereinstimmung ist eine um so bessere, je kleiner k gewählt wird, jedoch auch für $k = 0$ keine vollständige.

** Der in der Gaddumschen Arbeit angegebene Wert 7,6 beruht offenbar auf einem Rechenfehler, denn bereits für $\sigma_y \sqrt{n}$ ist der Wert 3,63 angegeben, während die genaue Rechnung den Wert 3,733 liefert.

Mit Hilfe der aus Abb. 2 bzw. Abb. 3 zu entnehmenden Gewichte können nun die Größen $\bar{x}$, y und R nach den Gleichungen (4), (5) und (6) berechnet werden. Durch den Punkt x, y und den Richtungskoeffizienten R ist die Hazensche Gerade analytisch bestimmt. Ihre Gleichung ist

$$y = R\,(x - \bar{x}) + \bar{y}. \tag{11}$$

Danach ist die Konstruktion leicht auszuführen.

Soll die Konstruktion auf logarithmischem Wahrscheinlichkeitspapier ausgeführt werden, so hat man natürlich an Stelle der x-Werte ihre Numeri und an Stelle der y-Werte die entsprechenden P-Werte einzutragen.

Setzt man in Gl. (3) $y = 0$, dann ist $x = x_0$ (vgl. S. 284). Der Punkt x_0, 0 ist der Schnittpunkt der Geraden mit der 50 %-Linie. Führt

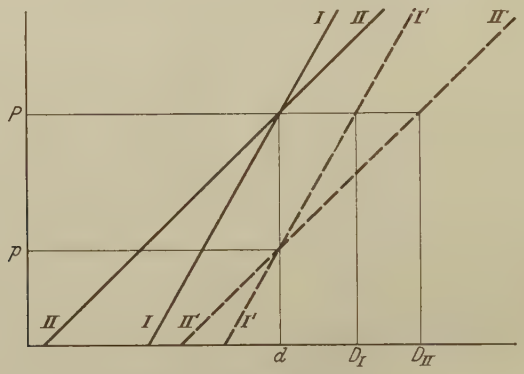


Abb. 4. (Erklärung im Text.)

man in Gl. (11) an Stelle der Koordinaten des gewogenen Mittels, $\bar{x}$, $\bar{y}$, die Koordinaten x_0, 0 ein, dann folgt nach Gl. (3)

$$R = \frac{y}{x - x_0} = \frac{1}{\mu}. \tag{12}$$

Die Größe R ist also der reziproke Wert der für das Tiermaterial charakteristischen „Streuung" μ der Dosenlogarithmen. Diese wichtige Eigenschaft von R hat folgende Bedeutung: Je kleiner die Variabilität des Tiermaterials ist, d. h. je gleichartiger die Tiere reagieren, um so steiler verläuft ihre Wirkungsgerade und um so kleiner wird der einem bestimmten Prozentsatzfehler entsprechende Messungsfehler. Man erkennt dies sofort aus Abb. 4.

Die Gerade I' sei die theoretisch richtige Wirkungsgerade. Das mit der Dosis d erhaltene (genauer: dem Dosenlogarithmus zugeordnete) Ergebnis sei P. Der Prozentsatzfehler ist dann $P - p$. Ihm entspricht ein „Lagefehler" $D_I - d$ der tatsächlich bestimmten Wirkungsgeraden I. Die flachere Wirkungsgerade II liefert für das gleiche Ergebnis den größeren Lagefehler $D_{II} - d$. Dem größeren Lagefehler entspricht der größere

Messungsfehler, wenn die Wirksamkeit des untersuchten Präparats mit der eines Standardpräparats verglichen wird.

Hat man aus mehreren Versuchen für den Richtungskoeffizienten die Werte $R_a, R_b, \ldots R_j, \ldots$ gefunden, so kann man aus ihnen wiederum ein gewogenes Mittel bilden:

$$R = \frac{\Sigma R_j g_{R_j}}{\Sigma g_{R_j}}, \qquad (13)$$

wobei

$$g_{R_j} = \Sigma g_i (x_i - \bar{x})^2$$

zu setzen ist [die Summe ist selbstverständlich nur aus den zu j gehörigen Gliedern $g_i (x_i - \bar{x})^2$ zu bilden]. Die Gewichte g_{R_j} sind bei der Berechnung von $R_a, R_b, \ldots R_j, \ldots$ bereits ermittelt worden; sie entsprechen dem Nenner von Formel (6).

Wünschenswert ist noch eine Fehlerangabe für die Größe R. Der Fehler von R ist bedingt durch die Fehler der Beobachtungen P'. Ebensowenig wie für P' ist für R eine Fehlerangabe in der Form des üblichen „mittleren Fehlers" möglich; vielmehr kann auch hier nur eine dem M_k-Bereich entsprechende Fehlerangabe gewonnen werden. Da der Gewichtsbestimmung für die P'-Werte der M_1-Bereich zugrunde gelegt wurde, ergibt sich rückwärts aus dem Gewicht für R ein dem M_1-Bereich entsprechender Fehlerbereich, der in der symmetrischen Form

$$f_R = \pm \frac{1}{\sqrt{\Sigma g_i (x_i - \bar{x})^2}} \qquad (13a)$$

angegeben werden kann, da auch die M_k-Bereiche in Hazenschen Ordinaten nahezu symmetrisch sind.

Bei der Messung mit Hilfe eines Standardpräparates (vgl. S. 285) handelt es sich darum, den Abstand zweier Wirkungsgeraden zu bestimmen. Sind beide Geraden unabhängig voneinander bestimmt worden, so wird man zwei im allgemeinen nicht völlig übereinstimmende Werte R_1 und R_2 erhalten. Um die Forderung, daß die Geraden parallel sein sollen, zu erfüllen, hat man den Mittelwert $\bar{R}$ in der angegebenen Weise aus Gl. (13) zu berechnen. Die beiden gesuchten Geraden sind die Parallelen mit dem Richtungskoeffizienten $\bar{R}$ durch die Punkte $\bar{x}_1, \bar{y}_1$ und $\bar{x}_2, \bar{y}_2$. Wurde von der zweiten Wirkungsgeraden — sei es die des Standards oder die des unbekannten Präparates — nur ein einziger Punkt x_2, y_2 ermittelt, dann wird ihre Lage durch die Parallele zu der errechneten Geraden mit dem Richtungskoeffizienten R_1 durch den Punkt x_2, y_2 bestimmt.

In jedem Falle hat man es mit zwei Punkten zu tun, die beide mit einem Fehler behaftet sind. Die Punkte seien im folgenden mit x_1, y_1 und x_2, y_2 bezeichnet, und zwar soll x_1 der Dosenlogarithmus des Standards, x_2 der Dosenlogarithmus des zu messenden Präparates sein. (Die Über-

streichungen, die die Punkte als Mittelwerte kennzeichnen, können nun entbehrt werden.)

Die Fehler der Punkte x_1, y_1 und x_2, y_2 beziehen sich natürlich nur auf die Ordinaten y_1 und y_2 bzw. auf die zugeordneten Größen P'_1 und P'_2. Die Fehlergrenzen von P'_1 und P'_2 sind aus den Gleichungen (10) zu berechnen, wobei für n die Gesamtzahl der bei der Bestimmung jeder Geraden berücksichtigten Tiere (n_1 für P'_1, n_2 für P'_2) einzusetzen ist.

Aus den Fehlergrenzen für P'_1 und P'_2 ergeben sich die Fehlergrenzen des Titers in folgender Weise:

Es seien f_1^- und f_1^+ die Fehlergrenzen von P'_1 und f_2^- und f_2^+ die Fehlergrenzen von P'_2. Als untere Fehlergrenze ergibt sich alsdann der den Abständen der beiden durch die Punkte $x_1, y(f_1^+)$ und $x_2, y(f_2^-)$ gelegten Geraden entsprechende Titerwert. Analog findet man die obere Titergrenze aus dem Abstand der beiden durch $x_1, y(f_1^-)$ und $x_2, y(f_2^+)$ gelegten Geraden.

Hierzu ist folgendes zu bemerken:

Die Wahrscheinlichkeit, daß eine einzelne Beobachtung, d. h. ein einzelner P'-Wert, einen größeren als den durch M_k gegebenen Abstand vom „wahren Wert" besitzt, möge mit W_k bezeichnet werden (vgl. S. 303). Die Wahrscheinlichkeit, daß von zwei eine Differenz darstellenden Beobachtungen P'_1 und P'_2 mindestens eine um mehr als den durch M_{k_1} bzw. M_{k_2} gegebenen Abstand vom zugehörigen „wahren Wert" abweicht, beträgt dann

$$(1 - W_{k_1})\, W_{k_2} + (1 - W_{k_2})\, W_{k_1} + W_{k_1} W_{k_2} = W_{k_1} + W_{k_2} - W_{k_1} W_{k_2} = V.$$

Für $k_1 = k_2 = k$ ergibt sich also

$$2\, W_k - W_k^2 = W_k\,(2 - W_k) = V.$$

V ist also stets größer als W_k, d. h. die Wahrscheinlichkeit $1 - V$, daß eine Differenz vorliegt, deren beide Endpunkte keinen größeren als den durch M_k gegebenen Abstand von den zugehörigen „wahren Werten" haben, ist kleiner als die Wahrscheinlichkeit $1 - W_k$, daß ein Einzelwert einen größeren als den durch M_k gegebenen Abstand vom „wahren Wert" besitzt.

Aus dieser Angabe läßt sich jedoch keine wahrscheinlichkeitstheoretische Begründung der von uns vorgeschlagenen Titergrenzen herleiten. Es muß vielmehr nachdrücklichst darauf hingewiesen werden, daß auch Wertpaare, von denen der eine oder beide Werte außerhalb der von uns vorgeschlagenen Bereiche liegen, zu Titerangaben führen, welche sich innerhalb der geforderten Titergrenzen halten. Die Zuverlässigkeit der Fehlerangaben für den Titer ist also höher zu bewerten als es auf Grund der lediglich die Differenzen der Prozentsätze betreffenden Wahrscheinlichkeitsbetrachtung scheinen könnte.

Als Beispiel für die Auswertung von Messungsresultaten sei ein Vergleich zwischen zwei bakteriellen Toxinen von gleicher Herkunft aber verschiedener Stärke behandelt:

Zur Bestimmung der Wirkungsgeraden wurden sechs Kollektive zu je 25 Tieren mit geometrisch abgestuften Dosen des zu messenden Toxins (Toxin 2) vergiftet. Die zur Berechnung von $\bar{x}$, y und R notwendigen Daten und die Ergebnisse sind in der folgenden Übersicht zusammengestellt:

Dosis mg	x	n	P'	y	g	gx	gy	$x-\bar{x}$	$gy(x-\bar{x})$	$(x-\bar{x})^2$	$g(x-\bar{x})^2$
0,03	−1,523	24	$^{10}/_{24} = 0{,}417$	−0,210	15,4	−23,5	− 3,23	−1,034	3,34	1,069	16,46
0,10	−1,000	25	$^{5}/_{25} = 0{,}200$	−0,842	12,5	−12,5	−10,52	−0,511	5,37	0,261	3,26
0,30	−0,523	25	$^{10}/_{25} = 0{,}400$	−0,253	15,8	− 8,3	− 4,00	−0,034	0,14	0,001	0,02
1,00	0,000	25	$^{16}/_{25} = 0{,}640$	+0,358	15,4	0,0	+ 5,51	+0,489	2,69	0,239	3,68
3,00	0,477	25	$^{23}/_{25} = 0{,}920$	+1,405	7,9	+ 3,8	+11,10	+0,966	10,72	0,933	7,37
10,00	1,000	25	$^{24}/_{25} = 0{,}960$	+1,751	5,2	+ 5,2	+ 9,11	+1,489	13,56	2,217	11,53
Σ		149			72,2	−35,3	+ 7,97		35,82		42,32

$$\bar{x} = -\frac{35{,}3}{72{,}2} = -0{,}489 = 0{,}511 - 1, \quad \text{Num}\,(\bar{x}) = 0{,}324,$$

$$\bar{y} = +\frac{7{,}97}{72{,}2} = 0{,}110, \quad P = P_2 = 54{,}4\,\%,$$

$$R = \frac{35{,}82}{42{,}32} = 0{,}846.$$

Die Gleichung der Geraden ist

$$y = R\,x - R\,\bar{x} + \bar{y} = 0{,}846\,x + 0{,}524.$$

Um die Gerade in das logarithmische Wahrscheinlichkeitspapier möglichst genau eintragen zu können, rechnen wir uns die Koordinaten zweier recht weit voneinander entfernten Punkte aus:

Dosis mg	x	y	P %
0,1	− 1	− 0,322	37,4
10,0	+ 1	+ 1,370	91,5

Zur Bestimmung der Wirkungsgeraden des Standards (Toxin 1) wurde nur ein Kollektiv zu 50 Tieren benutzt, die mit 1,8 mg vergiftet wurden. Das Ergebnis war:

$$P_1' = {}^{18}/_{50} = 0{,}36 \quad \text{bzw.} \quad P_1 = 36\,\%.$$

Die Konstruktion der beiden Wirkungsgeraden ist in Abb. 7 (S. 308) ausgeführt.

Die beiden zur Titerbestimmung erforderlichen Punkte sind

$$x_1 = \log 1{,}8 = 0{,}255, \quad y_1 = -0{,}358 \quad (P_1 = 36{,}0\,\%),$$
$$x_2 = \bar{x} = 0{,}511 - 1, \quad y_2 = \bar{y} = 0{,}110 \quad (P_2 = 54{,}4\,\%).$$

Für den Logarithmus der mit der Standarddosis wirkungsgleichen Dosis von Toxin 2 gilt die Beziehung

$$x = \frac{y_1 - y_2}{R} + x_2 = -1{,}042 = 0{,}958 - 2.$$

Die wirkungsgleiche Dosis selbst ist

$$\text{Num}\,(0{,}958 - 2) = 0{,}0908 \text{ mg}.$$

Den gesuchten Titer findet man schließlich durch Division der wirkungsgleichen Dosen:

$$\frac{1{,}8}{0{,}0908} = 19{,}8,$$

d. h. eine beliebige Dosis des Toxins 2 besitzt die gleiche Wirksamkeit wie die 19,8fache Dosis des Standards oder kurz: Toxin 2 ist 19,8mal so toxisch wie der Standard (Toxin 1).

Bequemer und doch genau genug läßt sich der Titer aus Abb. 7 bestimmen: Die mit 1,8 mg des Standards wirkungsgleiche Dosis ist der zu 36 % gehörende Abszissenpunkt der Wirkungskurve: 0,09. Der Titer ist also

$$\frac{1{,}8}{0{,}09} = 20{,}0.$$

Zur Bestimmung der Titer-Grenzen ist die Berechnung der M_k-Werte zu $P_1 = 36\,\%$ und $P_2 = 54{,}4\,\%$ erforderlich. Aus den Gleichungen (10) findet man für $k = 1$, $P_1' = 0{,}36$ und $n_1 = 50$

$$f_1^+ = 43{,}0\,\%, \quad f_1^- = 29{,}5\,\%$$

und für $P_2' = 0{,}544$ und $n_2 = 149$

$$f_2^+ = 58{,}4\,\%, \quad f_2^- = 50{,}3\,\%.$$

Zur Bestimmung der unteren Titergrenze brauchen wir die Werte f_1^+ und f_2^- (vgl. S. 296). Die Rechnung ist genau wie bei der Titerbestimmung, nur daß man f_1^+ an Stelle von P_1' und f_2^- an Stelle von P_2' zu setzen hat. Wir können uns jedoch mit der Ablesung aus Abb. 7 begnügen. Man findet auf der unteren, durch x_2, $y\,(f_2^-)$ gelegten Parallelen zur Wirkungsgeraden die zu $f_1^+ = 43\,\%$ gehörende Abszisse 0,2 mg und daraus die

$$\text{untere Titergrenze} = \frac{1{,}8}{0{,}2} = 9{,}0.$$

Um die obere Titergrenze zu ermitteln, lesen wir die zu $f_1^- = 29{,}6\,\%$ gehörende Abszisse aus der oberen, durch x_2, $y\,(f_2^+)$ gelegten Parallelen zur Wirkungsgeraden ab. Man findet den Wert 0,043 mg und daraus die

$$\text{obere Titergrenze} = \frac{1{,}8}{0{,}043} = 41{,}9.$$

Der Grundtiter stellt nicht das exakte geometrische Mittel zwischen dem oberen und unteren Grenztiter dar, weil die M_k-Bereiche auch in Hazenschen Ordinaten leicht asymmetrisch sind. Trotzdem darf man als allgemeine Titerangabe abgerundet schreiben:

$$\text{Titer} = 20 \overset{\times}{:} 2{,}1.$$

Da ferner der M_k-Bereich in Hazenschen Ordinaten nahezu dem k-fachen M_1-Bereich entspricht, kann man für beliebiges k näherungsweise den

$$\text{Titer} = 20 \overset{\times}{:} 2{,}1^k$$

angeben.

IV.

Wesentlich bequemer als das arithmetische Verfahren der Ausgleichsrechnung ist die graphische Methode. Im allgemeinen besteht die Auffassung, daß arithmetische Verfahren den graphi-

schen an Genauigkeit erheblich überlegen seien. Das ist aber durchaus nicht immer der Fall, z. B. nicht bei der Bestimmung der Hazenschen Geraden.

Wenn Ergebnisse $P' = 0$ oder $P' = 1$ vorliegen, verdient die graphische Methode zur Bestimmung der Hazenschen Geraden sogar den Vorzug. Versuchsergebnisse $P = 0\,\%$ und $P = 100\,\%$ sind in der Praxis nicht selten. Nach Gaddum wäre das solchen Ergebnissen zuzuschreibende Gewicht — entsprechend dem „mittleren Fehler" $\sqrt{0 \cdot 1/n} = 0$ — gleich dem Produkt aus $1/0 = \infty$ und $(dP'/dy)^2$. Da für $P' = 0$ und $P' = 1$ auch $(dP'/dy)^2 = 0$ ist, so ergibt sich als Gewicht der zunächst unbestimmte Wert $0 \cdot \infty$. Derartige unbestimmten Ausdrücke lassen sich durch Grenzprozesse bestimmen. Da P' aber nur diskrete, um mindestens $1/n$ unterschiedene Werte annehmen kann, ist ein sinnvoller Grenzübergang nur möglich, wenn $P' = 1/n$, also gleich dem kleinstmöglichen von Null verschiedenen Wert, gesetzt wird. Dann strebt P' mit wachsendem n gegen Null. Der gesuchte Grenzwert ist

$$\lim_{P' \to 0} \frac{n}{P'(1 - P')} \left(\frac{dP'}{dy}\right)^2 = \lim_{n \to \infty} n^2 \left(\frac{dP'}{dy}\right)^2 = \infty.$$

Dieser einzig sinnvolle Grenzübergang gibt jedoch keine Lösung der — praktisch allein in Betracht kommenden — Frage nach dem Gewicht für $P' = 0$ bei einem endlichen n. Hier zeigt sich deutlich die Unnatürlichkeit des Gaddumschen „mittleren Fehlers". Man ist gezwungen, den Ausdruck $\sqrt{\frac{P'(1 - P')}{n}}$ reinformal aufzufassen und den Grenzübergang für konstantes n auszuführen. Es zeigt sich dann, daß $(dP'/dy)^2$ mit abnehmendem P' (bzw. $1 - P'$) wesentlich rascher als $P'(1 - P')/n$ gegen Null strebt, so daß

$$\lim_{\substack{P' \to 0 \\ n = \text{konst}}} \frac{n}{P'(1 - P')} \left(\frac{dP'}{dy}\right)^2 = 0.$$

In den Formeln (4) und (5) treten die Summanden $g_i y_i$ auf. Für $0\,\%$ ($y = -\infty$) und $100\,\%$ ($y = +\infty$) ergeben sich also wieder unbestimmte Ausdrücke von der Form $-\infty \cdot 0$ und $+\infty \cdot 0$. Aber auch das Produkt $y \cdot \frac{n}{P'(1 - P')} \left(\frac{dP'}{dy}\right)^2$ strebt mit abnehmendem P' (bzw. $1 - P'$) gegen 0, so daß schließlich die Beobachtungen $P' = 0$ und $P' = 1$ bei der Ausgleichsrechnung unberücksichtigt bleiben.

Bei der M_k-Gewichtsmethode bestehen die angedeuteten logischen Schwierigkeiten nicht. Der eine Endpunkt des M_1-Bereiches bleibt beim Übergang zu Hazenschen Ordinaten im Endlichen, die andere Grenze rückt jedoch ins Unendliche, und dadurch wird der Gesamtbereich unendlich, das ihm entsprechende Gewicht also gleichfalls 0. Auch hier bleiben die Ergebnisse 0 und $100\,\%$ ohne Einfluß auf das Ergebnis der Ausgleichsrechnung:

Bezeichnet man den absoluten Betrag des M_1-Bereiches in y-Einheiten mit B, so ist das Gewicht $g = 4/B^2$. Nun ist $|y|$ sicher kleiner als $B + b$, wenn man mit b den Abstand der inneren Grenze des Bereiches B von der 0-Linie ($50\,\%$ Linie) bezeichnet. Man kann also schreiben:

$$|y| \cdot g = \frac{4\,|y|}{B^2} < \frac{4\,(B + b)}{B^2} = \frac{4}{B} + \frac{4\,b}{B^2}.$$

Da für $|y| = \infty$ auch $B = \infty$ ist, während die innere Grenze von B im Endlichen bleibt, also b stets einen endlichen Wert hat, so folgt für $|y| = \infty$

$$|y| \cdot g = \frac{4}{\infty} + \frac{4\,b}{(\infty)^2} = 0,$$

d. h. bei Anwendung von Gleichung (6) fallen die Punkte mit $P' = 0$ und $P' = 1$ heraus. Ein Übergang über fiktive Zwischenwerte zwischen $1/n$ und $0/n$ ist also nicht erforderlich.

Das unter Berücksichtigung des M_k-Bereiches sich ergebende graphische Verfahren ermöglicht dagegen — wie unten näher ausgeführt wird — noch eine gewisse Berücksichtigung der Ergebnisse 0 und 100%.

Bei der Ausgleichung auf graphischem Wege tritt an die Stelle des Gewichtes der entsprechende Fehlerbereich: je größer der Fehlerbereich, desto geringer ist das Gewicht der Beobachtung. Die Benutzung von logarithmischem Wahrscheinlichkeitspapier ermöglicht es, die gefundenen Prozentsätze ohne Zwischenrechnung oder Tabelle direkt als Ordinaten zu den zugehörigen Dosen als Abszissen einzutragen; die Fehlerbereiche müssen auf Grund der betreffenden Formeln, also unter Berücksichtigung der jeweils verwandten Tierzahl, errechnet oder geeigneten Tafeln (z. B. Abb. 6) entnommen werden. Liegen nur zwei Beobachtungen (beide ungleich 0 oder 100%) vor, braucht man lediglich die beiden Punkte durch eine Gerade zu verbinden. Bei mehreren Punkten ist die Gerade so durch die abgegrenzten Fehlerbereiche hindurchzulegen, daß die Bereiche möglichst nahe an den beobachteten Punkten geschnitten werden.

Bezüglich der abzugrenzenden Fehlerbereiche hat man sich für einen der folgenden Vorschläge zu entscheiden:

1. Ein graphisches Verfahren unter Verwendung des aus Gl. (7) sich ergebenden Fehlerbereiches

$$y \pm \sigma_y;$$

$$\sigma_y = \sigma_{P'} \cdot \frac{dy}{dP'} = e^{\frac{y^2}{2}} \sqrt{\frac{2\pi P'(1-P')}{n}} \tag{14}$$

ist kürzlich von Lode[26] beschrieben worden. An dem Lodeschen Verfahren läßt sich besonders schön zeigen, zu welchen Konsequenzen die Gaddumsche Fehlerangabe führt. Die in Hazenschen Ordinaten (y) symmetrischen Gaddum-Lodeschen Fehlerbereiche werden zwar um so größer, je weiter sich die P-Werte von der 50%-Linie entfernen, jedoch so, daß (für ein endliches n) mit abnehmendem P' (bzw. $1 - P'$) der obere Endpunkt nach $+\infty$ und der untere nach $-\infty$ strebt, d. h. für $P' = 0$ und $P' = 1$ kann von einer Fehler-„Abgrenzung" keine Rede mehr sein.

2. Einen anderen Fehlerbereich erhält man, wenn man die Endpunkte der Strecke $P' \pm \sqrt{P'(1-P')/n}$, die Gaddum als „mittleren Fehlerbereich" auffaßt, nach Gl. (2) transformiert. Dieser zunächst symmetrische Fehlerbereich wird durch die Transformation asymmetrisch. Dabei rückt mit gegen 0 oder 1 strebendem P' der gesamte abgegrenzte Fehlerbereich ins Unendliche, so daß die Forderung, die abgegrenzten Bereiche seien von der Hazenschen Geraden zu schneiden, nicht erfüllt werden kann; denn

[26] Lode, W.: Medizin und Chemie **3**, 339 (1936).

die „Gerade" müßte nach unten (bzw. nach oben) umbiegen, um zu dem im Unendlichen liegenden Fehlerbereich zu gelangen.

3. Bei einem von v. Schelling[23] angegebenen graphischen Verfahren werden die Bereiche nicht um den beobachteten Prozentwert, sondern um den Erwartungswert der Bayesschen Wahrscheinlichkeitsverteilung

$$a = \frac{P'n + 1}{n + 2}$$

abgegrenzt und entsprechen dessen mittlerem Fehler

$$s = \sqrt{\frac{a(1-a)}{n+3}}.$$

Nach diesem Verfahren bleiben beim Übergang zu Hazenschen Ordinaten auch für die Werte $P' = 0$ und $P' = 1$ sowohl die Erwartungswerte als auch die Endpunkte der Fehlerbereiche im Endlichen. Eine Berücksichtigung der Ergebnisse von Versuchen, bei denen 0 oder 100% der Tiere positiv reagieren, ist aber auch hier nicht möglich, wie man leicht erkennt, wenn es sich um die Auswertung von Reihen handelt, in denen etwa folgende Resultate gefunden werden: $P = 0$, 0, 0, 20, 40, 60, 80, 100, 100, 100, ...%. Hier ergibt sich für jeden Wert $P = 0$ bzw. 100 bei gleichbleibender Tierzahl nicht nur der gleiche Erwartungswert, sondern auch stets der gleiche Fehlerbereich. Die Forderung, daß die abgegrenzten Bereiche von der Hazenschen Geraden geschnitten werden sollen, ist also auch bei Verwendung der $a + s$-Bereiche nicht zu erfüllen; denn die „Gerade" müßte sowohl unten wie oben seitlich ausbiegen, um die den 0- bzw. 100-Werten entsprechenden $a + s$-Bereiche zu schneiden*. v. Schelling hat daher auf die Werte 0 und 100 bei der graphischen Auswertung bewußt verzichtet. Führt man an Stelle des $a \pm s$-Bereiches den einem Vielfachen von s entsprechenden Bereich ein, so fällt das eine Ende des Bereiches ins Unendliche, während das andere Ende im Endlichen bleibt. Damit ist die angedeutete Schwierigkeit zwar behoben; jedoch ergeben sich dann auch für die in der Nähe von 0 bzw. 100% liegenden Werte einseitig begrenzte Fehlerbereiche, so daß die Genauigkeit der Auswertung beeinträchtigt wird.

---

* Diese logische Schwierigkeit rührt daher, daß für $P' = 0$ und $P' = 1$ die Bayes-Verteilung durch eine monoton abnehmende Funktion dargestellt wird, so daß die symmetrische Abgrenzung um den Erwartungswert

$$a \pm s$$

gerade den wahrscheinlichsten („dichtesten") Wert ausschließt. Um dies zu vermeiden, müßte der Formalismus in sehr komplizierter Weise so abgeändert werden, daß nur solche Werte der Bayes-Verteilung ausgeschlossen werden, deren Wahrscheinlichkeitsdichte unter einer bestimmten Grenze liegt.

Wie oben bereits angedeutet wurde, lassen sich Angaben, die einem von 0 bzw. 1 verschiedenen P'-Wert einen die Werte 0 bzw. 1 einschließenden Fehlerbereich zuordnen, nicht sinngemäß deuten; auch aus diesem Grunde scheint es nicht erlaubt zu sein, daß man mit einem Vielfachen des $a \pm s$-Bereiches arbeitet, es sei denn, daß man gerade dasjenige — für jede Versuchsreihe verschiedene! — Vielfache ermittelt, bei welchem nur für die 0- und 100-Werte die eine Grenze ins Unendliche rückt, während bei allen anderen Werten beide Endpunkte des Fehlerbereiches im Endlichen bleiben; jedoch versagt auch dieser Ausweg, wenn die verschiedenen Tiergruppen nicht gleich groß sind, insbesondere wenn die Gruppen mit dem Ergebnis 0% mehr oder weniger Tiere umfassen als die Gruppen mit dem Ergebnis 100%.

Ein weiterer Ausweg könnte darin erblickt werden, daß man bei denjenigen Teilversuchen, in denen $P = 100\%$ gefunden wird, das jeweilige Resultat beim nächstfolgenden Wert mitverwertet; ergibt sich z. B. für die Dosen D, D_1, D_2, D_3 jeweils der Wert 24/24, so könnte man die Resultate so anschreiben, daß man $P'_D = 24/24$, $P'_{D_1} = 48/48$, $P'_{D_2} = 72/72$, $P'_{D_3} = 96/96$ angibt usw. Dadurch wird ein höherer Erwartungswert gefunden, und der $a \pm s$-Bereich rückt höher. In analoger Weise wären die Teilversuche mit dem Ergebnis $P = 0\%$ zu behandeln. Jedoch werden die Schwierigkeiten auch hierdurch nicht beseitigt, weil sich die durch die von 0 und 100 verschiedenen Resultate festgelegte Hazensche Gerade auch aus dem Bereich der durch diesen Kunstgriff veränderten Fehlergrenzen sehr schnell entfernt.

Die Schwierigkeiten, welche sich bei der Verwendung des $a \pm s$-Bereiches ergeben, werden besonders deutlich, wenn man versucht, das Verfahren zu arithmetisieren. Der einem Ergebnis $P' = 0$ bzw. 1 entsprechende Erwartungswert für die Bayes-Verteilung ist stets ungleich 0 bzw. 1, und diesem Wert entspricht auch in Hazenschen Ordinaten stets ein endlicher Wert, dem ein von 0 verschiedenes Gewicht zugeschrieben werden muß, das aus dem transformierten mit beiden Endpunkten im Endlichen bleibenden $a \pm s$-Bereich zu berechnen ist. Jedes 0%- und jedes 100%-Ergebnis wird also einen gewissen Einfluß auf die Größe des Richtungskoeffizienten der Hazenschen Geraden ausüben, so daß die Neigung der Geraden um so geringer ausfällt, je mehr 0%- und 100%-Werte vorliegen. Wenn man dagegen durch Verwendung eines Vielfachen von s zu einem unendlichen Fehlerbereich bzw. zu einem Gewicht 0 gelangt, so ergibt sich die Gefahr, daß auch solche Versuche das Gewicht 0 erhalten, bei denen $P \neq 0$ und $P \neq 100$ gefunden wurde, so daß gerade die für die Bestimmung des Richtungskoeffizienten wichtigsten Werte nicht sämtlich berücksichtigt werden können.

4. Wählt man als Grundlage der Fehlerabgrenzung das M_k-Verfahren, dann verschwinden sämtliche Bedenken einfach deshalb, weil M_k die dem Bernoullischen Problem adäquate Fehlerbestimmung ist. Bei der Arithmetisierung fallen die 0- und 100%-Punkte heraus, können also das Ergebnis auch nicht störend beeinflussen. Bei der graphischen Methode werden sie jedoch mitberücksichtigt, weil der eine Endpunkt des M_k-Bereiches beim Übergang zu Hazenschen Ordinaten im Endlichen bleibt. Der Fehlerbereich liegt zwischen den Grenzen $P' + M_k^+$ und $P' + M_k^-$, die sich aus Gl. (10) ergeben.

Während die von uns vorgeschlagenen „Gewichte" mit einer bestimmten Willkür gewählt wurden (siehe S. 293), können die nach der M_k-Formel sich ergebenden „Mutungsgrenzen" wahrscheinlichkeitstheoretisch einwandfrei begründet werden:

Ersetzt man die Bernoullische Verteilung durch die der Laplaceschen Näherung entsprechende Verteilung, so ist die Wahrscheinlichkeit, daß P' keinen größeren als den durch

$$M_1 = \sqrt{\frac{f\,(1-f)}{n}},$$

$$M_2 = 2\sqrt{\frac{f\,(1-f)}{n}} \text{ usw.}$$

gegebenen Abstand vom „wahren Wert" p' besitzt,

$$\mathfrak{W}_1 = 1 - W_1 = 0{,}683,$$
$$\mathfrak{W}_2 = 1 - W_2 = 0{,}954 \text{ usw.},$$

weil nur dann

$$P' - p' > M_k = k\sqrt{\frac{f\,(1-f)}{n}}$$

wenn

$$P' - p' > k \cdot m = k\sqrt{\frac{p'\,(1-p')}{n}}.$$

($W_1 = 0{,}317$, $W_2 = 0{,}046$ usw.; vgl. S. 296.)

Prigge[22] hat zwar darauf aufmerksam gemacht, daß der der M_k-Formel zugrunde liegende Ansatz für sehr kleine und sehr große p'-Werte nicht streng gültig ist. Herr Prof. van der Waerden weist uns aber darauf hin, daß diesem Umstand praktisch keine Bedeutung zukommt:

An sich müßte man bei der Herleitung der Mutungsgrenzen von der exakten Bernoulli-Formel

$$W = \sum_{z_1}^{z_2} \binom{n}{z} p'^{\,z}\,(1-p')^{\,n-z}$$

ausgehen. Die M_k-Formel verwendet statt dessen eine Näherung, nämlich das Integral

$$\frac{1}{\sqrt{2\pi\,p'\,(1-p')\,n}} \int_{z_1-\frac{1}{2}}^{z_2+\frac{1}{2}} e^{-\frac{(z-p'n)^2}{2p'(1-p')n}}\,dz.$$

Es zeigt sich aber, daß die Fehler der Näherung an der oberen und unteren Integrationsgrenze sich großenteils aufheben, so daß die M_k-Formel auch bei extrem kleinen bzw. extrem großen Wahrscheinlichkeiten noch sehr zuverlässige Werte ergibt.

An einem praktischen Beispiel, dem eine von Prigge[10] beobachtete Versuchsreihe zugrunde liegt, zeigt sich sehr schön, wie entscheidend unter Umständen die Mitberücksichtigung eines 0%- oder 100%-Wertes sein kann. Prigge hat einen hochaktiven Alaunimpfstoff J 5 mit dem im Frankfurter Institut für experimentelle Therapie benutzten Standardimpfstoff verglichen. Seine Versuchsergebnisse sind in Tabelle 1 wiedergegeben. Für das graphische Ausgleichsverfahren kommt vor allem die mit dem Alaunimpfstoff erhaltene Reihe von sieben Punkten in Frage. Tabelle 2 gibt die nach dem M_k-Verfahren für $k = 1$ ermittelten Bereiche wieder, innerhalb deren die den beobachteten Prozentsätzen P zugrunde-

Tabelle 1.

Titration eines Diphtherie-Alaun-Impfstoffes („Reihenversuch").

Gegen 1,8 mg (= 12 dl_{100})* Diphtherietrockentoxin T 172 pro 250 g Körpergewicht wurden am 16. VI./14. VII. 1936 geschützt

durch den Standardimpfstoff		durch den Alaunimpfstoff J 5	
Dosis und Verdünnung	Zahl der Tiere	Dosis und Verdünnung	Zahl der Tiere
		2 ccm $^1/_5$ = 0,4 ccm	24/24 = 100 %
		2 „ $^1/_{10}$ = 0,2 „	24/25 = 96 %
		2 „ $^1/_{20}$ = 0,1 „	23/24 = 95,8 %
2 ccm $^1/_1$** = 2 ccm	15/23 = 65,2 %	2 „ $^1/_{50}$ = 0,04 „	12/25 = 48 %
		2 „ $^1/_{100}$ = 0,02 „	3/24 = 12,5 %
2 „ $^1/_4$ = 0,5 „	3/24 = 12,5 %	2 „ $^1/_{200}$ = 0,01 „	0/23 = 0 %
		2 „ $^1/_{500}$ = 0,004 „	0/24 = 0 %

Tabelle 2.

Impfstoff	Dosis	Beobachteter Prozentsatz P	Obere Grenze des M_1-Bereiches	Untere Grenze des M_1-Bereiches
			$P + M_1^+$	$P + M_1^-$
Standard	2,0	65,2	74,3	54,8
„	0,5	12,5	20,8	7,2
Alaun	0,4	100	100	96,0
„	0,2	96,0	98,5	90,0
„	0,1	95,8	98,4	89,6
„	0,04	48,0	57,9	38,3
„	0,02	12,5	20,8	7,2
„	0,01	0	4,2	0
„	0,004	0	4,0	0

liegenden „wahren" Prozentsätze p zu suchen sind, wenn für die Abweichungen der P-Werte von den p-Werten nicht mehr als der einfache mittlere Fehler zugelassen wird.

Die Wirkungsgeraden sollen so konstruiert werden, daß die beobachteten Werte P als normale Abweichungen von den theoretisch geforderten Punkten p (also von den entsprechenden Punkten der Wirkungsgeraden) erscheinen (Prigge[10]). Der „mittlere Fehler" der p-Werte bzw. der Betrag, um den die P-Werte von den entsprechenden Punkten der Wirkungsgeraden abweichen dürfen, errechnet sich selbstverständlich in gewohnter Weise nach der Bernoullischen Fehlerformel.

Abb. 5 zeigt die graphische Ausgleichung. Die den von 0 und 100 verschiedenen Punkten entsprechenden Bereiche schränken die Lage der Geraden in beiden Richtungen ein, während sich die zu 0 und 100 gehörigen Bereiche nur in einer Richtung geltend machen. Trotzdem kommt

* dl_{100} = dosis certe letalis minima (die Dosis, welche eben ausreicht, um nichtimmunisierte Versuchstiere in 100 % der Fälle innerhalb von 5 Tagen zu töten).

** $^1/_1$ = unverdünnt; als $^1/_1$-Verdünnung des Standardimpfstoffes ist eine „Normallösung" bezeichnet, welche 1,9 mg = 1 Schutz-Einheit (SE) in 1 ccm enthält.

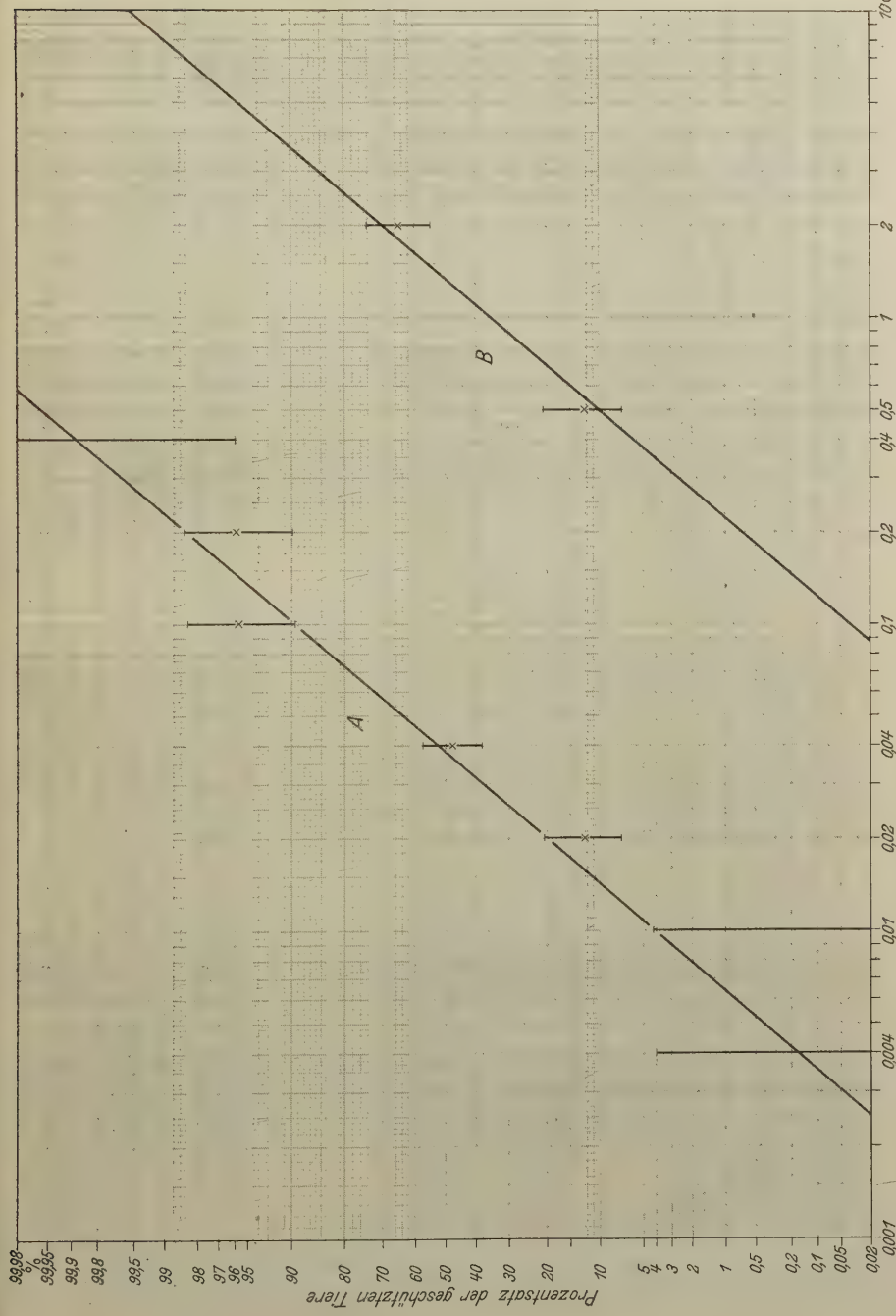


Abb. 5. Graphische Wertbestimmung eines Diphtherie-Impfstoffes mit Hilfe von Wirkungsgeraden. A: gemessener Impfstoff; B: Standardpräparat. Wertverhältnis = 35 : 1.

ihnen erhebliche Bedeutung zu. Man braucht nur anzunehmen, daß das mit 0,02 ccm Alaunimpfstoff gewonnene Resultat (12,5 %) nicht vorläge, um einzusehen, daß das für 0,01 ccm gefundene Ergebnis (0 %) die Lage der Wirkungsgeraden wesentlich beeinflußt. Die Neigung der Wirkungsgeraden würde ohne dieses Ergebnis vermutlich geringer angenommen werden. Ferner zeigt das Beispiel auch die besondere Bedeutung gerade des dem 50 %-Punkte nächstliegenden 0 %- bzw. 100 %-Resultates. Die Bereiche aller folgenden 0- oder 100-Werte werden sicher geschnitten, wenn diese Forderung für den nächstliegenden erfüllt ist und wenn die folgenden Resultate nicht mit sehr viel größerer Tierzahl ermittelt sind als das nächstliegende. In Fällen, in denen nur ein oder überhaupt kein Resultat zwischen 0 und 100 vorliegt, bestimmt die graphische Verwendung der den Werten 0 und 100 % zugeordneten M_k-Bereiche immer noch eine Mindestteilheit der Wirkungsgeraden, während die Ausgleichsrechnung hier völlig versagt.

Die M_k-Funktion [s. Gl. (9), S. 290] ist — mathematisch gesehen — sehr interessant. So liegen z. B. die Maxima bzw. Minima sämtlicher Kurven der zu den Parametern k und n gehörenden Kurvenscharen auf einer Geraden:

Die Ableitung von Gleichung (9) nach P' ergibt

$$\frac{d\,M_k}{d\,P'} = -\frac{k^2}{n+k^2} \pm \frac{n\,k\,(1-2\,P')}{(n+k^2)\,\sqrt{4\,n\,P'\,(1-P')+k^2}}.$$

Für $\frac{d\,M_k}{d\,P'} = 0$ ergibt sich zwischen P' und n die Beziehung:

$$P' = \frac{1}{2} \mp \frac{k}{2\sqrt{n}}. \tag{15}$$

Setzt man diesen Wert für P' in Gleichung (9) ein, so erhält man als Funktion zwischen M_k und n:

$$M_k = \pm \frac{k}{2\sqrt{n}}. \tag{16}$$

Die Vorzeichenschreibweise ist so zu verstehen, daß $\pm = -(\mp)$ ist. Aus (15) und (16) folgt schließlich die einfache lineare Funktion:

$$\text{Extr}M_k = \tfrac{1}{2} - P'. \tag{17}$$

In Abb. 6 bringen wir eine graphische Darstellung* des Verlaufs der Funktion M_1 für einige ausgezeichneten Kollektive (10, 25, 50, 100, 250, 500 und 1000 Tiere). Die M_1-Werte haben wir — entsprechend den Abszissen $P = 100\,P'$ — mit 100 multipliziert und außerdem noch fünffach überhöht eingetragen, um den charakteristischen Kurvenverlauf besser zu veranschaulichen.

* Wir verweisen auf eine in Vorbereitung befindliche Arbeit von H. v. Schelling, welche ausführliche Tabellen der M_k-Funktion für $k = 1, 2, 3$ bringt und in Kürze in Heft 37 der „Arbeiten a. d. Staatl. Institut f. exper. Ther. u. d. Forschungsinstitut für Chemotherapie zu Frankfurt a. M." erscheinen wird.

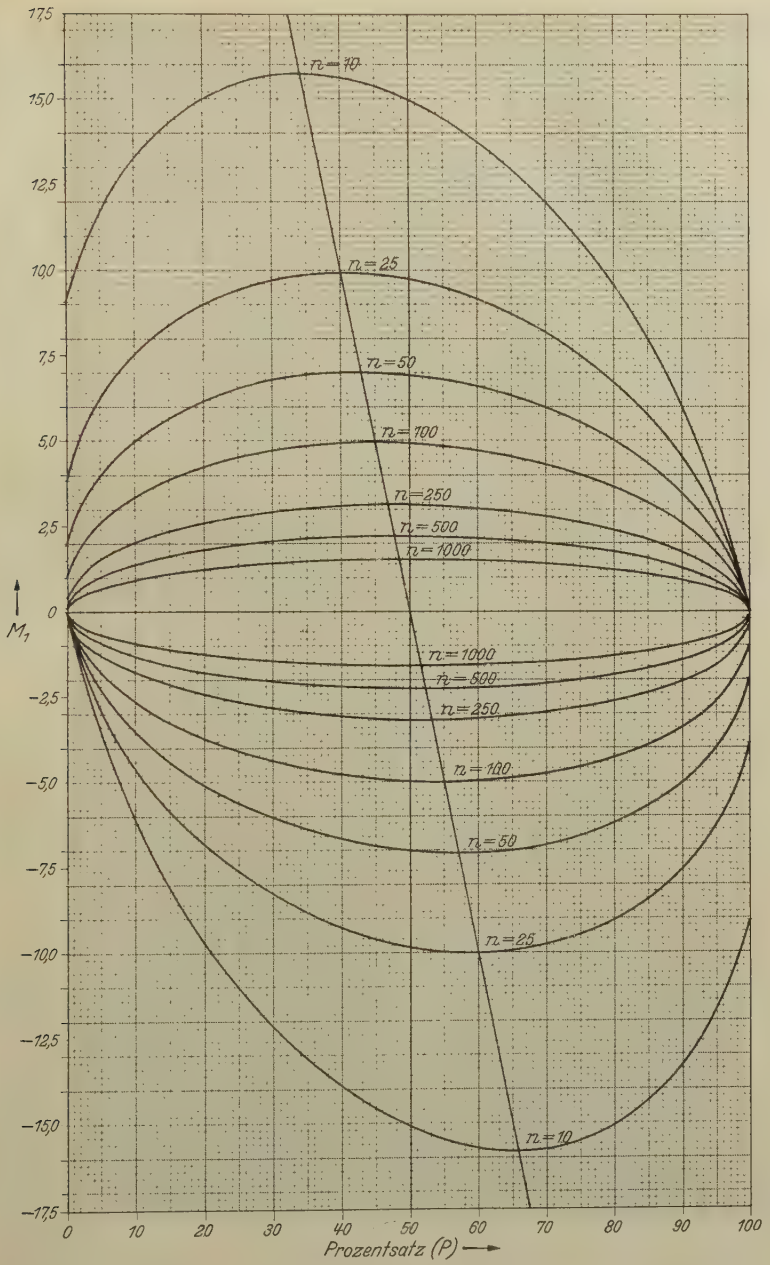


Abb. 6. Verlauf der M_k-Funktion für $k = 1$ und $n = 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000$.

Das ganze Verfahren besteht nun darin, daß man die zu den beobachteten Werten P' gehörigen M_1-Werte nach Gleichung (9) berech-

net* oder — soweit möglich — aus Abb. 6 entnimmt, die Grenzen $P' + M_1^+$ und $P' + M_1^-$** in das „logarithmische Wahrscheinlichkeitspapier“ einträgt und durch die verschiedenen auf diese Weise ermittelten M_1-Bereiche eine

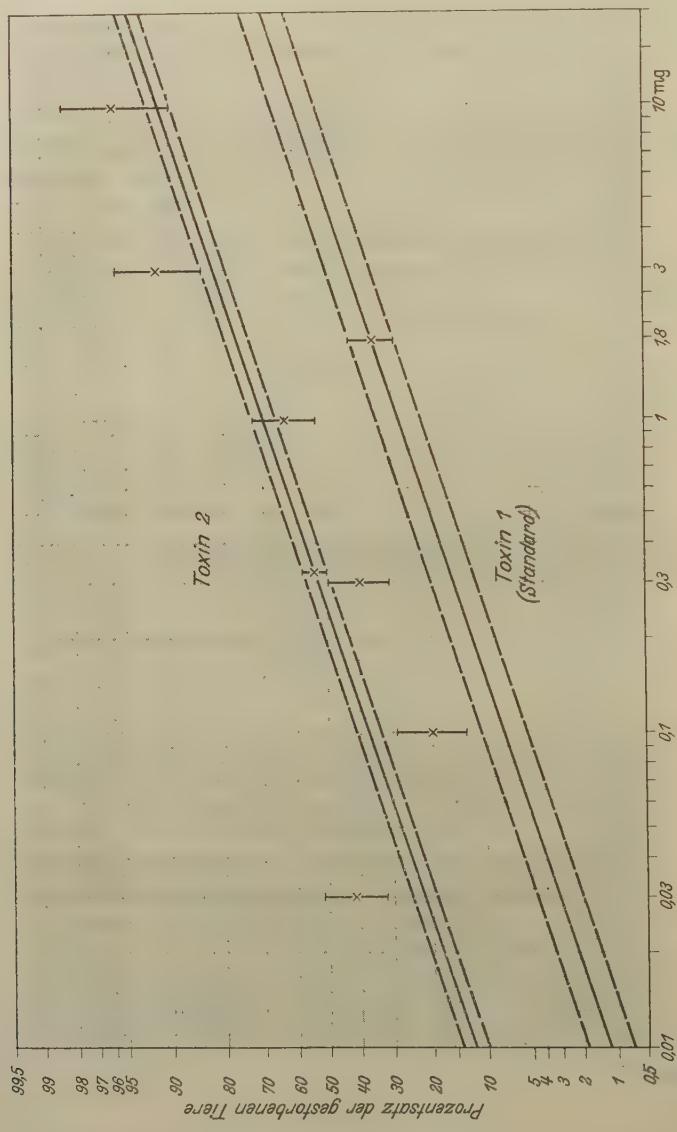


Abb. 7. Vergleich zweier Toxine mit Hilfe von Wirkungsgeraden (vgl. Text Seite 296 ff. u. 309).

* Die Rechnung läßt sich auf elementarem Wege leicht durchführen, während die Berechnung des Gaddumschen Fehlers σ_y nach Gleichung (14) wesentlich umständlicher ist.

** Man kann die Grenzen auch unmittelbar nach Gleichung (10) berechnen.

Gerade hindurchzulegen sucht, die möglichst nahe an den beobachteten Werten vorbeiläuft. Dabei ist zu berücksichtigen, daß durchschnittlich in 32 von 100 Fällen die Hazensche Gerade außerhalb des abgegrenzten Bereiches verläuft, sodaß also nicht notwendig alle zu einer Versuchsreihe gehörigen Fehlerbereiche geschnitten werden müssen.

Sollten ein oder mehrere Punkte der Wirkungsgeraden wesentlich außerhalb des M_1-Bereiches zu liegen kommen, so wird die graphische Ausgleichung zu ungenau. In solchen Fällen wird man dem arithmetischen Verfahren den Vorzug geben, auf welches man auch angewiesen ist, wenn aus mehreren Bestimmungen der Wirkungsgeraden das Mittel genommen werden soll [nach Formel (13)]. Ein Beispiel gibt Abb. 7, die graphische Darstellung der auf S. 296ff. arithmetisch behandelten Versuchsauswertung: Die berechnete Wirkungsgerade verläuft außerhalb von vier der sechs M_1-Bereiche!

In der Regel wird man mit der Einzeichnung der M_1-Bereiche gut auskommen. Ein Kriterium dafür, daß die Wirkungsgerade genügend nahe an den beobachteten Punkten vorbeiläuft, besteht darin, daß man unter der Annahme, die Punkte auf der Geraden seien die „wahren Werte" p', die den beobachteten Werten entsprechenden k-Werte nach der Formel

$$k = \frac{|p' - P'|}{\sqrt{\frac{p'(1-p')}{n}}} \qquad (18)$$

berechnet. Im allgemeinen soll k den Wert 3 nicht überschreiten (vgl. S. 304).

Die zur Titerbestimmung notwendige zweite Wirkungsgerade, im Beispiel der Abb. 5 die Wirkungsgerade des Standards, muß parallel zu der ersten verlaufen. Sie ist in Abb. 5 durch zwei Punkte bestimmt, an denen sie „möglichst nahe" vorbeigeführt wurde. Als Titer findet man:

$$\frac{2}{0{,}0575} = 34{,}8, \text{ abgerundet: } 35.$$

Eine gewisse Schwierigkeit bietet noch die Bestimmung der Fehlergrenzen des Titers bei rein graphischer Darstellung. Da die Bestimmung eines Mittelwertes nur durch Rechnung möglich ist, kann man sich, wenn man auf die Rechnung verzichtet, so behelfen, daß man sämtliche Teilergebnisse zu einem Gesamtergebnis zusammenfaßt, indem man die Gesamtzahl der reagierenden Tiere durch die Gesamtzahl der zum Versuch verwandten Tiere dividiert und die M_1-Grenzen zu dem so gewonnenen Prozentsatz einträgt; durch diese Grenzen legt man Parallelen zur Wirkungsgeraden. Die Titerbestimmung gestaltet sich dann genau so, wie auf S. 298 beschrieben.

Das Verfahren sei für das Beispiel der Abb. 5 durchgeführt: Für den Standardimpfstoff ergibt sich

$$P_1 = \frac{15+3}{23+24} = \frac{18}{47} = 38{,}3\,\%,$$

und für den Impfstoff J_5 findet man

$$P_2 = \frac{86}{169} = 50{,}9\,\%.$$

Die zu P_1 und P_2 gehörenden M_1-Grenzen sind:

$$f_1^+ = 45{,}6\,\%, \quad f_1^- = 31{,}5\,\%,$$
$$f_2^+ = 54{,}7\,\%, \quad f_2^- = 47{,}1\,\%.$$

Mit diesen Werten findet man:

$$\text{untere Titergrenze:} = \frac{2}{0{,}0715} = 28{,}0,$$

$$\text{obere Titergrenze:} = \frac{2}{0{,}0435} = 46{,}0,$$

$$\text{Titer} = 35 \overset{\times}{:} 1{,}3.$$

Zusammenfassung.

1. Nach den Arbeiten von Fechner, Kisskalt und Hazen wird ein Verfahren zur Wertbemessung biologisch wirksamer Substanzen beschrieben, welches auf eine einfache lineare Beziehung zwischen Dosis und Wirkung führt. Diese Beziehung läßt sich durch Verwendung eines geeigneten Koordinatenpapieres — des sogenannten „logarithmischen Wahrscheinlichkeitspapieres" — unmittelbar sinnfällig machen.

2. Die Bewertung der den experimentell ermittelten Ergebnissen anhaftenden Fehler wird mit Hilfe einer Fehlerformel durchgeführt, die von dem bisher vernachlässigten Problem der Rückschlußwahrscheinlichkeit ausgeht und eine Bestimmung der Grenzen ermöglicht, innerhalb deren die „wahren Werte" zu suchen sind.

3. Auf Grund dieser Fehlerformel wird ein „Gewichts"-Verfahren — d. h. ein Verfahren zur „Wägung" des Wertes der Ergebnisse — aufgebaut, welches die älteren, von Urban und Gaddum angegebenen Methoden zu ersetzen hat.

4. Es wird eine Reihe von Diagrammen veröffentlicht, aus denen die Fehler und die Gewichte unmittelbar entnommen werden können.

5. Für den Gebrauch in der Praxis wird ein einfaches graphisches Verfahren vorgeschlagen, welches sich bei der Verwendung von logarithmischem Wahrscheinlichkeitspapier und bei Benutzung der in der Arbeit enthaltenen Diagramme zur Fehlerformel ohne jede Rechnung durchführen läßt.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg i. Br.
(Vorstand: Prof. Dr. Bohnenkamp.)

Zur Kenntnis der Ursachen der Kumulierungserscheinungen der Digitalisglykoside.

Mitteilung V: Zeichen der Empfindlichkeit*.

Von

Hellmut Bauer und **H. Reindell.**

(Eingegangen am 30. Mai 1938.)

In der zweiten Mitteilung[1] wurde schon versucht, aus den auskultatorisch ermittelten Werten von Frequenz und Rhythmus die Bedingungen reversibler und irreversibler Digitalisvergiftungen näher zu untersuchen. Damals wurde beobachtet, daß Tiere mit schnell schlagenden Herzen meist stärker kumulierten. Es wurde auch festgestellt, daß am 2.—4. Tag nach größeren Vordosen die Herzfrequenz oft rascher und unregelmäßiger wurde. Im weiteren Verlauf der Vergiftung wurde sie dann entweder wieder langsam und regelmäßig oder aber es trat eine Tachycardie auf. Solche Tiere, die nach einem Umschlag nach 2—4 Tagen in der Folge eine Tachycardie zeigten, starben dann meist spontan oder benötigten kleine Zusatzdosen.

Durch die jetzigen neuen Untersuchungen, die diese Beobachtungen bestätigten, wissen wir, daß es sich bei diesen Erscheinungen nach 2—4 Tagen um Sekundärwirkungen handelte (auf Einzelheiten der Primärwirkung wurde damals nicht geachtet).

Wir können auch jetzt durch unsere genaueren Auswertungen mit einiger Bestimmtheit sagen, daß sich bezeichnende EKG.-Veränderungen nicht finden lassen, aus denen wir Rückschlüsse auf eine reversible oder irreversible Digitalisvergiftung (ausgenommen Stadium IV und die hochgradigen Frequenzverlangsamungen einige Stunden vor dem Tode) ziehen könnten.

Wenn auch bei dem Kumulierungsproblem nach wie vor das insuffiziente Herz und seine Zustandsbedingungen, die die Überempfindlichkeit gegen diese Glykoside bedingen, im Vordergrund steht, so war die Untersuchung auf Zeichen besonderer Empfindlichkeit an normalen Herzen wichtig, um wenigstens hier einen Schritt weiter zu kommen. Die Registrierung durch das EKG. bei unseren Kumulierungsversuchen gab uns Gelegenheit, die Digitoxinwirkung sehr genau zu verfolgen und die EKG. bei den ver-

* IV. Mitteilung: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 461 (1938).
[1] Bauer: Ebenda **176**, 65 (1934).

schiedenen Tieren auf solche Zeichen besonderer Digitoxinempfindlichkeit zu untersuchen.

Bei den letalen Infusionen wurde schon auf Zeichen besonderer Empfindlichkeit geachtet und gefunden, daß alle Vergiftungsstadien bei empfindlichen Tieren früher auftreten und ihre Pulsverlangsamung dabei verhältnismäßig geringer ist. Anschließend sollen nun die anderen Versuchsreihen (subletale und wiederholte Dosen) daraufhin geprüft werden und besonders sollen hierbei auch die Beziehungen der morphologischen Veränderungen zur Empfindlichkeit untersucht werden.

1. Herzfrequenz und Digitoxinempfindlichkeit.

Die Frequenz eines normal schlagenden Herzens zeigt natürlich bei einem Tier wie der Katze mit ihrer bekannten vegetativen Empfindlichkeit oft eine beträchtliche Schwankungsbreite. Wir konnten uns jedoch in unseren Versuchen, die eine sehr große Zahl von Tieren umfassen, davon überzeugen, daß bei ruhigen Versuchsbedingungen beim gleichen Tier keine allzu großen und nicht übersehbaren Schwankungen auftreten. Dabei stellten wir fest, daß man ebenso wie beim Menschen auch bei der Katze unterscheiden kann zwischen Tieren mit schnell und langsam schlagenden Herzen. Aus den mehrfach gemessenen Normalwerten von etwa 200 Versuchstieren ergab sich für Q — Q ein Durchschnittswert von 26/100 Sek. = 230 Schläge/Minute, d. h. Werte oberhalb dieser Zahl kann man als langsamschlagende und Werte unterhalb als schnellschlagende Herzen betrachten.

Tabelle 1. Ausgangsfrequenz und Empfindlichkeit gegen Digitoxin.

Versuchsart	Tod nach	Vertragene Dosenzahl	Q — Q 1/100 Sek.
Letale Infusionen	—	empfindliche Tiere	26
„ „		weniger empfindl. Tiere	27,6
Subletale Dosen 0,17 mg/kg	1—24 Stunden	—	27,5
	2—4 Tagen	—	23,6
	5 Tage, überlebt	—	25,5
Wiederholte Dosen 2 · 0,1 mg/kg (Abstand 1 Tag)	1—24 Stunden	—	24,5
2mal 0,1 mg/kg (Abstand 1 Tag)	4 Tage, überlebt	—	28,2
2mal 0,1 mg/kg (Abstand 4 Tage)	1—24 Stunden	—	24,0
2mal 0,1 mg/kg (Abstand 4 Tage)	2 Tagen	—	33,0
0,05 mg/kg (Abstand 1 Tag)	—	3	26,0
0,05 mg/kg (Abstand 1 Tag)....	—	4	24,0
0,05 mg/kg (Abstand 1 Tag)	—	5—6	27,0
0,05 mg/kg (Abstand 2 Tage) ...	—	2	26,0
0,05 mg/kg (Abstand 2 Tage) ...	—	3	28,0
0,05 mg/kg (Abstand 2 Tage) ...	—	4	27,0

Alle Werte sind Durchschnittswerte.

In Tabelle 1 haben wir Ausgangswerte der Frequenz (Durchschnittswerte) aus den verschiedenen Versuchsreihen der Empfindlichkeit gegen-

übergestellt. Größere Empfindlichkeit bedeutet also bei letalen Infusionen kleine letale Dosen mg/kg, bei subletalen Dosen und großen wiederholten Dosen kurze Lebenszeit und bei kleinen wiederholten Dosen geringere Zahl von vertragenen Dosen.

Tabelle 1 zeigt, daß mit wenigen Ausnahmen bei einer langsameren Herzschlagfolge eine größere Verträglichkeit bzw. geringere Empfindlichkeit gegen Digitoxin, und umgekehrt eine größere Empfindlichkeit vorwiegend bei den schneller schlagenden Herzen beobachtet wurde.

Bei unseren Vergiftungen konnten wir drei verschiedene Arten des Verhaltens der Frequenz beobachten. 1. Vergiftungsverlauf mit überwiegend schneller Frequenz. 2. Vergiftungsverlauf mit überwiegend langsamer Frequenz. 3. Vergiftungsverlauf mit stark wechselnder Frequenz.

Tabelle 2. Digitoxinempfindlichkeit von Tieren, deren Herzen im Vergiftungsverlauf mit überwiegend langsamer oder überwiegend schneller Frequenz schlugen.

Nr.	Versuchsart	Langsame Frequenz Tod nach	Nr.	Schnelle Frequenz Tod nach
6	subletale Dose	4 Tagen	135	3 Tagen
4	„ „	5 „	124	4 „
125	„ „	5 „	200	3 „
1	„ „	2 „	130	überlebt
135	2mal 0,1 mg/kg	7 „	74	2—3 Stunden
60	„ „	8 Tagen (getötet)	80	3—4 „
132	„ „	überlebt		
57	„ „	8 Tagen		
	wiederholte Dosen	Tod nach Dosenzahl		Tod nach Dosenzahl
43	0,05 mg/kg	3	41	3
133	„	4	42	3
129	„	5	130	4
49	0,05 mg/kg (Abstand 2 Tage)	3	E	4
56	0,05 mg/kg (Abstand 2 Tage)	3	55	2 (Abst. 2 Tage)
130 a	0,05 mg/kg (Abstand 1 Tag)	6		

In Tabelle 2 haben wir nur von solchen Tieren Versuche aufgeführt, die während des Vergiftungsverlaufes Frequenzen aufwiesen, die überwiegend ober- und unterhalb des allgemeinen Durchschnittswertes von 26/100 Sek. lagen. Vergiftungsverläufe mit stark wechselnder Frequenz beobachteten wir bei zwei Tieren; beide gehörten zu den weniger empfindlichen.

Aus der Tabelle ist zu ersehen, daß bei der Mehrzahl der widerstandsfähigen Tiere das Herz während einer Digitoxinvergiftung in langsamem Rhythmus schlägt. Dasselbe wurde auch bei den letalen Infusionen beob-

achtet, bei denen die weniger empfindlichen Tiere T, P, U, L, Q einen Vergiftungsverlauf mit vorwiegend langsamer Frequenz zeigten[2].

2. Primärwirkung und Digitoxinempfindlichkeit.

Die erste Wirkung des Digitoxins ist von großem Einfluß, ja meist entscheidend für den ganzen weiteren Vergiftungsverlauf bzw. die weitere verträgliche Dosenzahl. Wir haben deshalb untersucht, welchen Einfluß die Veränderungen verschiedener EKG.-Abschnitte im Anfang einer Vergiftung auf den ganzen Vergiftungsverlauf haben.

a) Frequenz.

Im Beginn jeder Digitalisvergiftung kann man bei der Mehrzahl der Versuchstiere eine Frequenzverlangsamung beobachten, vereinzelt allerdings auch eine leichte Beschleunigung. Die Verlangsamung ist von verschiedener Stärke und Dauer, der zeitliche Beginn dabei recht unterschiedlich. Wir betrachten nur die ersten 24 Stunden, denn eine längere primäre Wirkung kann aus schon erörterten Gründen nicht angenommen werden, da das Glykosid nach dieser Zeit zerstört sein muß.

In der nachfolgenden Tabelle 3 geben wir eine Zusammenstellung der Untersuchungen mit subletalen Dosen, bei denen die erste Wirkung besonders eindrucksvoll ist. Stärker wirksame kleine und mittlere Dosen ergeben grundsätzlich die gleichen Befunde.

Tabelle 3. Primärwirkung auf die Frequenz und Empfindlichkeit (subletale Dosen).

Nr.	Ausgangsfrequenz Q — Q	% Verlangsamung gegenüber der Ausgangsfrequenz	Nach Zeit	% Beschleunigung gegenüber der Ausgangsfrequenz	Nach Zeit	Tod nach
53	33	12	40 Minuten	39	2 Stunden	3 Stunden
122	22	145	8—10 Stunden	18	2 „	11 „
23	23	24	20 „	—	—	2 Tagen
135	25	26	10—12 „	A	2 Stunden	2,5 „
124	22	27	10—12 „	A	4 „	3,5 „
5	22	36	4—6 „	0	16 „	4 „
6	24	46	2—4 „	—	—	4 „
4	27	37	4—6 „	—	—	5 „
125	31	29	6 „	16	11 Stunden	5 „
7	20	45	20 „	0	16 „	7 „
	20	30	2—4 „	—	—	7 „
123	29	28	2—4 „	—	—	12 „
130	23	—	—	43	10 Stunden	überlebt

A = Ausgangswert.

In Tabelle 3 sind die Versuche von oben nach unten mit fallender Empfindlichkeit aufgeführt. Spalte 3 verzeichnet die % Verlangsamung

[2] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 468 (1938). Mitt. IV, Tabelle 5, 8, 13, 14.

gegenüber der Ausgangsfrequenz, und zwar handelt es sich um die erste stärkere Wirkung mit Angabe der Zeit (Spalte 4). Da wir meist in zweistündigem Abstand kontrollierten, wurde sie vielleicht nicht in allen Fällen erfaßt. Eine noch engere Kontrolle ist aber, wie Versuche zeigten, bei denen wir stündlich und zum Teil halbstündlich beobachteten, nicht erforderlich. Die große Zahl von Versuchen gibt ein eindeutiges Bild der primären Wirkung auf die Frequenz wieder. So zeigte es sich, daß die erste stärkere Frequenzverlangsamung meist auch die stärkste innerhalb der Primärwirkung war. Die größten Frequenzverlangsamungen wurden aber innerhalb der Sekundärwirkung beobachtet. Spalte 5 zeigt die größte beobachtete Frequenzbeschleunigung innerhalb der ersten 24 Stunden. Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß eine stärkere Frequenzverlangsamung fast ausschließlich bei den längerlebenden Tieren, also den weniger empfindlichen zu beobachten war. Ferner ist zu ersehen, daß (genau wie bei den letalen Infusionen) die prozentuale Frequenzverlangsamung gegenüber dem Ausgangswert bei den empfindlichen Tieren geringer ist. Die Durchschnittswerte ergeben: Empfindliche Tiere (Tod bis 3. Tag) 20%, weniger empfindliche Tiere 37% Verlangsamung gegenüber der Ausgangsfrequenz. Den von Nr. 122 angeführten Wert für die % Verlangsamung haben wir bei der Mittelwertsbestimmung nicht berücksichtigt, da er schon dem Endstadium kurz vor dem Tode entsprach. Das Tier starb 2 Stunden später. In Spalte 4 ist zu sehen, daß der Beginn der ersten stärkeren Frequenzverlangsamung bei den weniger empfindlichen Tieren mit einer Ausnahme bedeutend früher beginnt, wie bei den empfindlichen. Es ist nun aber nicht etwa so, daß bei letzteren eine noch frühzeitigere Verlangsamung zu beobachten wäre, sondern im Gegenteil im Beginn der Vergiftung wird oft eine Beschleunigung oder gar keine Beeinflussung gefunden. Tritt bei empfindlichen Tieren eine frühzeitige Frequenzverlangsamung auf, so ist dieselbe nie sehr stark und lang; ihr folgt bald wieder eine Beschleunigung und die stärkste Frequenzverlangsamung (Spalte 3), die wir bei den empfindlichen Tieren später beobachten, muß schon einem späteren Vergiftungsstadium entsprechen. Wir müssen annehmen, daß neben dem gradweisen Wirkungsunterschied gewissermaßen auch noch eine zeitliche Verschiebung des ganzen Vergiftungsverlaufs besteht, d. h. die verschiedenen Wirkungen folgen hier einander in kürzeren Abständen. Bei den weniger empfindlichen Tieren, bei denen sich der Vergiftungsverlauf langsamer abspielt, können wir diesen Verlauf gut verfolgen. Hier kann man innerhalb 24 Stunden bei der Mehrzahl eine zweite Frequenzverlangsamung beobachten, der eine Beschleunigung vorausgegangen ist. Auf der Tabelle ist diese Beschleunigung in Spalte 5 und 6 gut zu erkennen. Wir haben deshalb von Tier Nr. 7 zwei Werte angeführt. Aus ihnen ist besonders deutlich das rasche Abklingen der Primärwirkung zu ersehen. Nach 2—4 Stunden starke Frequenzverlangsamung, nach 16—20 Stunden wieder Beschleunigung und nach 24 Stunden wieder Verlangsamung. Also eine relativ kurze Primärwirkung

und dementsprechend lange Lebensdauer (7 Tage) bzw. geringe Empfindlichkeit.

Als Sonderfall muß Katze Nr. 130 erwähnt werden, die sich als besonders widerstandsfähig erwies; sie gehörte auffallenderweise zu den Tieren mit schnell schlagenden Herzen.

Vom primären Verhalten der Frequenz bei den Versuchen mit wiederholten Dosen begnügen wir uns mit der Mitteilung der Ergebnisse. Die Verlangsamung bei empfindlichen Tieren ist gering, es besteht meist eine Neigung zu Beschleunigung. Das Auftreten dieser Veränderungen steht in Zusammenhang mit der ganzen vertragenen Dosenzahl und tritt entsprechend früher oder später auf, also das eine Mal z. B. schon nach der ersten, das andere Mal erst nach der dritten Dose. Hervorzuheben ist hierbei, daß die Frequenzverlangsamung bei den weniger empfindlichen Tieren verhältnismäßig früher auftritt und auch stärker als bei den empfindlichen Tieren ist. Ein guter Gradmesser für die Stärke der Wirkung bei wiederholten kleinen Dosen sind auch die Formveränderungen der Endschwankung, aus denen oft, schon ehe eine stärkere Frequenzverlangsamung oder Beschleunigung auftritt, die Stärke der anfänglichen Digitoxinwirkung erkannt werden kann.

Bei großen wiederholten Dosen bestimmt ausschließlich die Wirkungsstärke der ersten Dose den weiteren Vergiftungsverlauf. Bei empfindlichen Tieren sieht man wenig oder gar keine Frequenzverlangsamung, u. U. Beschleunigung, bei den weniger empfindlichen Tieren auch hier wie bei allen anderen Versuchsreihen eine stärkere Frequenzverlangsamung als Primärwirkung.

b) Überleitungszeit.

Beim normal schlagenden Herzen ist die Überleitungszeit nach allgemeiner Erfahrung an die Frequenz gekoppelt. Einer schnellen Frequenz entspricht eine kürzere Überleitungszeit und umgekehrt. Unsere Normalwerte bestätigten auch an der Katze diese von der menschlichen Stromkurve her bekannte Tatsache. Die meisten Angaben über die Wirkung des Digitalis auf die Überleitungszeit sagen, daß man bei kleinen Dosen eine Verkürzung beobachtet und bei größeren eine Verlängerung, die sich bis zum Block steigern kann. Wir möchten gleich vorausnehmen, daß wir diese Erfahrungstatsachen (an normalen Herzen) vorwiegend auch bei unseren Versuchen bestätigt fanden, aber bei einem Teil unserer Versuche, besonders bei höheren Dosen, die ja eine so wechselvoll verlaufende Vergiftung verursachen können, erhebliche Abweichungen antrafen.

Bei der Primärwirkung waren Frequenz und Überleitungszeit mit wenig Ausnahmen aneinander gekoppelt. Wir fanden jedoch bei allen Versuchsreihen immer einige Fälle, bei denen die Frequenzverlangsamung mit einer sehr deutlichen Verkürzung von P — Q einherging. Es handelte sich hier in allen Fällen um besonders widerstandsfähige Tiere (Nr. 60, 132, 130a, 49, 59); zu diesen gehörte auch Katze Nr. 130, die bei erheblicher

Frequenzbeschleunigung eine Verkürzung von P — Q zeigte. Auffallend war weiter, daß in mehreren Fällen (Nr. 125, 5, 7) in der Sekundärwirkung bei der Frequenzverlangsamung auch eine erhebliche Verkürzung von P — Q zu beobachten war. Auch hier betraf es weniger empfindliche Tiere.

Abschließend kann gesagt werden, daß sich sonst, mit Ausnahme der oben erwähnten Sonderfälle, bei allen Versuchsreihen primär aus der Überleitungszeit keine Unterschiede für empfindliche und weniger empfindliche Tiere feststellen ließen.

3. Herzmuskelnekrosen und Digitoxinempfindlichkeit.

Die morphologischen Veränderungen des Herzmuskels nach Digitalisvergiftungen sind bis jetzt, wenn man von vereinzelten Mitteilungen über ebensolche Befunde am Hund (van Dyke) absieht, nur an der Katze regelmäßig festgestellt worden. Als erster hat sie 1905 Lewitzki[3] beschrieben. Neuerdings wurden sie durch Büchner[4] festgestellt, der auf Anregung von Bauer[5] die Herzen seiner Tiere untersuchte (Mitt. I–III). In der Folgezeit wurden von Weese[6] u. a. die Befunde bestätigt.

Wenn man annimmt, daß sie eine Folge der allgemeinen Digitalisempfindlichkeit der Katze sind, so war damit die Frage, ob sie auch Ausdruck einer besonderen Empfindlichkeit sein können, noch nicht beantwortet. Zu dieser Frage konnte erst Stellung genommen werden, wenn Versuche mit stärkeren nachweisbaren Digitalisvergiftungen von Katzen zum Vergleich vorlagen, bei denen in den Herzen der Versuchstiere keinerlei morphologische Veränderungen gefunden wurden.

Weiter war die Frage zu überprüfen, in welcher Weise die morphologischen Veränderungen von der Höhe der Dose und der Stärke der Vergiftung abhingen und welche Rolle dabei die zeitlichen Verhältnisse spielen. Da die Lokalisation der Nekrosen eine gewisse Beständigkeit zeigt und rechter und linker Ventrikel oft ungleichmäßig befallen werden, war auch von Wichtigkeit, die Zusammenhänge hierbei zu untersuchen, ferner die Beziehungen zwischen Höhe der Dose und Nekrosenzahl einerseits und zwischen Stärke der Vergiftung und Nekrosenzahl andererseits.

Unsere Untersuchung und Stellungnahme zu den verschiedenen Fragen erfolgt an Hand der Übersichtstabelle 4. Der Aufbau der Tabelle ergibt sich aus den Spaltenüberschriften. Spalte 7 und 8 bedürfen einer kurzen Erklärung.

In den Spalten führen wir die Dauer der stärksten toxischen Primär- und Sekundärwirkung auf, soweit eine solche beobachtet wurde, da ihre Beziehungen zu den morphologischen Veränderungen wichtig sind. Eine genaue Angabe der Dauer

---

[3] Lewitzki: Diss. Petersburg 1905; Ref. Zbl. f. allg. Path. **16**, 532 (1905). — [4] Büchner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **176**, 59 (1934). — [5] Bauer: Ebenda **176**, 74 (1934); **172**, 699 (1933). — [6] Weese u. Dieckhoff: Ebenda **176**, 274 (1934).

der toxischen Wirkungen ist nicht immer möglich, da diese z. B. während der Nacht beginnen und aufhören können, desgleichen in Zwischenzeiten, in denen keine EKG. geschrieben wurden. Bei solchen Versuchen wird die kürzeste Zeit, innerhalb welcher sie beobachtet wurden, angegeben. In den Fällen, bei welchen wir die Dauer feststellen konnten, ist die Zeitangabe fett gedruckt. Bei den wiederholten kleinen Dosen kann bei eintägigem Dosenabstand primäre und sekundäre toxische Wirkung nicht unterschieden werden, da dieselben ineinander fließen. Die angegebenen Zeiten entsprechen hier der ganzen Dauer der beobachteten toxischen Wirkung. Bei wiederholten großen Dosen kann primäre und sekundäre toxische Wirkung wieder unterschieden werden. Besonders zu beachten sind die Angaben der EKG.-Stadien (I***, II, III, IV).

Aus diesen Versuchen ergibt sich die Tatsache, daß es bei allen Dosierungen Fälle ohne morphologische Veränderungen gibt. Welche Beziehungen bestehen nun aber im Falle der Nekrosenbildung zwischen Höhe der Dose und Nekrosen?

Tiere Nr. 8 und 9 erhielten beide überletale Dosen. Nr. 8 starb nach einer Stunde an den Folgen der Vergiftung, Nr. 9 wurde nach 30 Stunden getötet, nachdem vorher etwa 29 Stunden lang eine stark toxische Wirkung (Stadium III) beobachtet wurde. Was ergab die morphologische Untersuchung? Bei Nr. 8 (eine sehr kurze schwere Vergiftung) keine Nekrosen, bei Nr. 9 (auch eine schwere relativ kurz dauernde Vergiftung), aber innerhalb von 30 Stunden ausgedehnte frische Nekrosen im Herzmuskel. Wir stellen diese beiden Versuche an den Beginn dieser Erörterung, da sie am besten Aufschluß geben. Für das Zustandekommen von Nekrosen im Herzmuskel ist einmal eine gewisse Dosenhöhe, zum anderen aber, und das ist sehr wesentlich, auch eine, eine gewisse Zeit dauernde Intensität der Wirkung notwendig. Je höher die verabreichte Dose also ist, desto schneller und sicherer können wir Nekrosen im Herzmuskel erwarten (unter der Voraussetzung, daß eine stärkere Digitaliswirkung eine gewisse Zeit wirksam war). Wie steht es nun mit den anderen Dosierungen? Bei den subletalen Dosen (0,17 mg/kg) wurden vor dem 3. Tag nie Nekrosen gefunden, wie schon die ersten Untersuchungen ergaben, bei denen die Herzen zahlreicher Tiere, die nach 1 und 2 Tagen an den Folgen der Vergiftung starben, untersucht wurden, und bei denen in keinem Falle Nekrosen gefunden wurden. Nun verfügen wir aber auch über Versuche, bei welchen nach kleinen Dosen schon nach 1,5 Tagen Nekrosen gefunden wurden (Nr. 43). Hierbei handelt es sich um Versuche mit wiederholten kleinen Dosen. Die einmalige gleiche Dose von 0,1 mg/kg Digitoxin bei Nr. 44 hat zu keinen morphologischen Veränderungen geführt, aber dieselbe Dose unterteilt gegeben, hat nach derselben Zeit durch Wirkungsaddierung zu solchen geführt (Nr. 43) (siehe auch Nr. 41, 42, 49!, 56, 59). Nr. 58 und 59 sind zwei Versuche mit denselben Gesamtdosen (0,1 mg/kg), Dauer 5,5 bzw. 6 Tage. Die längere Versuchsdauer führte hier einmal zu wenig, das andere Mal zu viel Nekrosen. Die Nekrosenbildungen sind demnach innerhalb gewisser Dosenhöhen unabhängig von der Dauer einer Digitoxinvergiftung.

Tabelle 4. Digitoxinvergiftung und Nekrosenbildung.

Nr.	Einmalige Dosen Digitoxin mg/kg	Wiederholte Dosen mg/kg	Dosenabstand Tage	Gesamtdose mg/kg	Versuchsdauer Tage	Dauer der toxischen Wirkungsstunden primär	Dauer der toxischen Wirkungsstunden sekundär	Nekrosen recht. Ventrikel	Nekrosen linker Ventrikel
1	0,17	—	—	0,17	3	0	0	—	—
3	0,17	—	—	0,17	3	0	0	(*)	*
4	0,17	—	—	0,17	4	I*** 24	II, I*** 24	****	*
5	0,17	—	—	0,17	3,5	II, I*** 24	0	****	*
6	0,17	—	—	0,17	3,5	0	I*** 36	—	(*)
7	0,17	—	—	0,17	6	0	I*** 24	**	**
8	0,3	—	—	0,3	1 Std.	III	—	—	—
9	0,25	—	—	0,25	30 „	**III 29**	—	****	***
41	—	3 mal 0,05	1	0,15	3,5	I*** 30	—	—	**
43	—	2 „ 0,05	1	0,1	1,5	I*** 26	—	—	(*)
44	0,1	—	—	0,1	1,5	0	0	—	—
42	—	4 mal 0,05	1	0,2	4,5	I*** 26	—	—	*
129	—	5 „ 0,05	1	0,25	5,5	**I*** 4**	—	—	*
130 a	—	6 „ 0,05	1	0,3	6,5	**I*** 30**	—	****	***
58	—	2 „ 0,05	2	0,1	5,5	0	0	—	—
55	—	2 „ 0,05	2	0,1	6	?	?	—	(*)
49	—	3 „ 0,05	2	0,15	5,5	?	?	**	****
56	—	3 „ 0,05	2	0,15	5	III 24	—	***	**
59	—	3 „ 0,05	2	0,15	6,5	III 24	—	***	***
50	—	2 „ 0,05	2	0,1	—	I*** 24	—	—	—
50	—	3 „ 0,05	2	0,15	4,5	I*** 24 ?	—	*	*
135	—	2 „ 0,1	1	0,2	7	I*** 24	**IV 6**	***	**
134	—	2 „ 0,1	1	0,2	18	I*** 24	**III 24**	**	**
60	—	2 „ 0,1	1	0,2	7	0	**III 3**	—	—
51	—	2 „ 0,1	4	0,2	4,5	**III 6**	—	*	**
54	—	2 „ 0,1	4	0,2	5	?	?	*	**
57	—	2 „ 0,1	4	0,2	7	?	III 24	—	***
132	0,17	2 „ 0,1	—	0,27	überlebt	II, III 24	III 48		
		5 „ 0,05	1	0,25	5,5	III 28	—	****	*** a f
130	0,17	—	—	0,17	überlebt	**II 3**	I*** 10		
		4 mal 0,05	1	0,2	4,5	?	—	***	** f
90	—	14 „ 0,05	innerhalb drei Monaten, mehrfach III 1–24 Stunden					**** a f	

Zeichenerklärung für Nekrosen: (*) vereinzelt, * sehr wenig, ** wenige, *** viele, **** sehr viele. a = alte Nekrosen, f = frische Nekrosen.

Wir müssen hierbei also noch einen dritten Umstand mit berücksichtigen und das ist die oben schon erwähnte Intensität der Wirkung. Wir haben dieselbe in Spalte 7 angegeben, und zwar führen wir hier als Intensität der Wirkung die toxische Wirkung und deren Dauer auf. Es handelt sich hierbei besonders um jene Vergiftungsstadien, die wir mit II und III bezeichneten, sowie Vergiftungsstadien, bei denen schwerere Formveränderungen der Endschwankung vorlagen (I***). Hervorzuheben sind in dieser Beziehung die Versuche Nr. 129 und 130a. Hier handelt es sich um wenig empfindliche Tiere, wie die vertragene Teildosenzahl aussagt. Die Vergiftungsdauer war bei Nr. 130a 24 Stunden länger wie bei Nr. 129. Die Stärke der Vergiftung war bei beiden gleich stark, das toxische Stadium dauerte aber bei Nr. 130a 24 Stunden länger. Die EKG.-Kontrolle zeigte bei beiden nach der 5. Dose eine Blockbildung an, die bei Nr. 130a bei Gabe der 6. Dose noch bestand. Nr. 129 starb einige Stunden nach der 5. Dose, Nr. 130a einige Stunden nach der 6. Dose. Es kann hier angenommen werden, daß die längere Dauer der toxischen Wirkung die Ursache der zahlreicheren Nekrosen war. Einen noch besseren Vergleich aber, zur Beurteilung des Einflusses der toxischen Wirkung auf die Nekrosenbildung, ermöglichen jene Versuche, die unter völlig gleichen Versuchsbedingungen gemacht worden sind (Nr. 1 –7); alle Tiere erhielten die gleiche Dose Digitoxin mg/kg (i. v.). Aus der Tabelle ist der Einfluß der Dauer und besonders der Stärke der toxischen Wirkung leicht erkennbar.

Eine Frage, die hierbei gestellt werden kann, ist die des Einflusses von primär und sekundär toxischer Wirkung? Ohne hierzu endgültig Stellung zu nehmen, glauben wir aus unseren jetzigen Versuchen bis jetzt feststellen zu können, daß der Einfluß der primär toxischen Wirkung der ausschlaggebende ist.

Aus den obigen Erörterungen ist die Frage der Abhängigkeit der Zahl der Nekrosen von der Höhe der Dose beantwortet. Sie besagen, daß die Nekrosenzahl nicht direkt von der Höhe der Dose abhängig ist, sondern von der Stärke der Wirkung, also von der individuellen Empfindlichkeit. Die Neigung zu Nekrosenbildung bei einmaligen Dosen scheint geringer, dagegen ist dieselbe bei wiederholten Dosen stark vorhanden. Bei letzteren ist auffallenderweise auch die Zahl der Nekrosen verhältnismäßig höher, und es kommt auch ganz besonders die Unabhängigkeit von der Gesamtdose zum Ausdruck. (Wirkungsaddierung!). Zwischen Nekrosen und Gesamtdauer einer Digitoxinvergiftung bestehen keine direkten Beziehungen.

Die besonderen Zusammenhänge zwischen Nekrosenlokalisation und Stromkurve werden von anderer Seite (Gentsch) beschrieben. Hier an dieser Stelle sei auf die merkwürdige Tatsache aufmerksam gemacht, daß die Nekrosen bei Versuchen mit einmaligen Dosen vorwiegend im rechten Ventrikel und bei Versuchen mit wiederholten Dosen vorwiegend im linken Ventrikel lokalisiert sind.

Zusammenfassung.

Die Untersuchung auf Zeichen besonderer Empfindlichkeit aus den Stromkurvenwerten und den morphologischen Veränderungen hat ergeben:

1. Katzen mit schnell schlagenden Herzen sind gegen Digitoxin empfindlicher wie solche mit langsam schlagenden.

2. Empfindliche und weniger empfindliche Tiere unterscheiden sich durch ihr Verhalten in der Primärwirkung deutlich. Bei weniger empfindlichen tritt eine Frequenzverlangsamung (in allen Versuchsreihen) früher und stärker auf. Bei empfindlichen Tieren ist die Frequenzverlangsamung geringer, meist besteht eine Neigung zu Frequenzbeschleunigung.

3. Das Verhalten der Überleitungszeit bei empfindlichen und weniger empfindlichen Tieren ist bei der Mehrzahl gleich. Eine Verkürzung der Überleitungszeit bei Frequenzverlangsamung wurde ausschließlich bei einigen sehr wenig empfindlichen Tieren beobachtet.

4. Nekrosenbildungen durch Digitoxin im Herzmuskel der Katze zeigen keine direkte Abhängigkeit bezüglich ihrer Bildung und Zahl von der Höhe der Dose. Einen maßgeblichen Einfluß auf die Nekrosenbildung hat die Dauer und besonders Stärke der primär toxischen Wirkung. Bei wiederholten Dosen ist die Neigung zu Nekrosenbildung und auch ihre relative Zahl größer wie bei einmaligen Dosen. Bei wiederholten Dosen zeigt sich eine besondere Unabhängigkeit der Zahl der Nekrosen von der Gesamtdose. Nekrosen durch einmalige Dosen verursacht, sind vorwiegend im rechten und solche durch wiederholte Dosen vorwiegend im linken Ventrikel lokalisiert.

Die histologische Untersuchung der Herzen wurde wie früher im Path. Institut der Universität Freiburg (Prof. Büchner) durch Herrn Gentsch durchgeführt. Wir möchten an dieser Stelle für die mühevolle Arbeit unseren verbindlichsten Dank sagen.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg i. Br.
(Vorstand: Prof. Dr. Bohnenkamp.)

Zur Kenntnis der Ursachen der Kumulierungserscheinungen der Digitalisglykoside.

VI. Mitteilung:
Beitrag zur Digitoxinwirkung auf die Endschwankung der Herzstromkurve*.

Von

Hellmut Bauer und **H. Reindell.**

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. Mai 1938.)

Die Bedeutung der Endschwankung der Herzstromkurve (EKG) wird durch zahlreiche Arbeiten der letzten Jahre gekennzeichnet. Solche Untersuchungen wurden unter sehr verschiedenen Versuchsbedingungen an Mensch und Tier ausgeführt und ihre Ergebnisse, die einerseits oft miteinander in Widerspruch standen, zeichneten sich andererseits dadurch aus, daß unter ungleichen Voraussetzungen gleichartige Befunde erhoben wurden. Über die Einwirkung des Digitalis auf die Endschwankung des EKG geht schon seit Beginn der Digitalisuntersuchungen ein Kampf sowohl um ihre Deutung wie auch besonders darum, ob gewisse typische Veränderungen Ausdruck der Digitaliswirkung sind. Als einer der ersten hat wohl de Boer in seinen grundlegenden Arbeiten am Froschherzen (mit toxischen Digitalisdosen) als charakteristische Digitaliswirkung eine Abflachung und anschließend Negativwerden der T-Zacke genauer beschrieben und gedeutet. Im weiteren Verlauf der Vergiftung wird die T-Zacke wieder positiv. Zu ähnlichen Befunden am Froschherzen mit verschiedenen Digitalissubstanzen kamen auch andere Untersucher (Laubry und Deglaude, Walser und Deglaude, Tijpp, Pietrowski). Takamura stellte durch verschiedene Glykoside am Muskelstreifen von der Basis des Temporarierherzens eine Verkleinerung der T-Zacke fest, gleichgültig, ob sie positiv oder negativ war. Neben der Umkehr der T-Zacke beschreiben alle Untersucher auch eine Senkung des Zwischenstückes. An den Herzen von Hühnerembryonen fanden Langen und Sampson ebenfalls vor und nach Einwachsen der Nervenfasern charakteristische Veränderungen der T-Zacke.

An Warmblüterherzen wurden gleichartige Befunde erhoben (Halsey, Levine und Cunningham, Planelles und Werner, Gold, Hoekstra und Schleussing u. a.). Alle stellten eine Umkehr der T-Zacke fest, aber

* V. Mitt. siehe S. 311 dieses Heftes.

der Zeitpunkt des Auftretens war sehr verschieden. Ein Teil der Untersucher findet sie schon im Beginn der Vergiftung. Andere aber erst in Stadien toxischer Wirkung. Die unterschiedliche Wirkung auf die einzelnen EKG-Abschnitte durch verschiedene Digitalissubstanzen, die von einzelnen Untersuchern festgestellt wurde, haben wir früher schon erwähnt. Es ist eine offene Frage, inwieweit neben den verschiedenen Glykosiden auch verschiedene Tierarten Wirkungsunterschiede zeigen können. Blumenfeld und Strauss konnten bei mehrtägiger Infusion an Kaninchen das Auftreten von negativen T nicht beobachten. Das Kaninchen ist ein digitalisresistentes Tier und die mehrtägigen Infusionen haben in diesem Falle wohl nicht zum nötigen Wirkungsgrad, der für eine Umkehr der T-Zacke erforderlich ist, geführt. Brams arbeitete mit Kaninchen und Katzen; er fand vereinzelt ein negatives T. Bei herzgesunden Kranken fand er selbst bei toxischen Digitalisdosen nie eine gleichmäßige Veränderung der Endschwankung. Von weiteren Untersuchern wird sowohl am Tier wie Mensch bei sehr verschiedenen Dosierungen über eine stärkere Senkung des Zwischenstückes oder Negativwerden der Endschwankung durch Digitalis berichtet (Nikolai, Simons, Pardee, Weber, Schellong, Aschenbrenner, Grünbaum, Cohn, Fraser und Jannieson, Cohn und Levi, White und Sattler, Robinson und Wilson, Korth und Spang, Coelho, Kahlson). Von vielen Seiten wird bei dem Zustandekommen dieser Veränderungen der Dosierung eine besondere Bedeutung beigemessen. So sieht Levine in der Umkehr der T-Zacke ein Zeichen der therapeutischen Wirksamkeit. Brams lehnt sie als Ausdruck einer Digitalisvergiftung ab, andere wieder sehen in ihr ein Zeichen toxischer Wirkung (Winternitz, Cheer, Berliner, Herles, Fischer, Kisch, Grünbaum u. a.).

Der unterschiedlichen Auffassung zur Frage der therapeutischen oder schon toxischen Wirkung steht eine ebenso vielseitige Stellungnahme der näheren Deutung, der durch Digitalis verursachten Formveränderungen der Endschwankung, gegenüber. Eine negative Endschwankung wird vielfach als Zeichen eines schlechten Myocardzustandes angesehen. So sieht Grünbaum in dem Negativwerden der Endschwankung durch Digitalis den Ausdruck einer Myocardschädigung. Aschenbrenner erörtert die Frage der Senkung des Zwischenstückes und kommt zu dem Schluß, daß diese Veränderungen, die vielfach als Zeichen einer Coronarinsuffizienz gewertet werden, mit einer solchen nichts zu tun haben. Scherf spricht von einem inkonstanten Begleitsymptom der Digitaliswirkung. Für ihn bedeutet eine Senkung des Zwischenstückes und ein negatives T noch keine Myocardschädigung. Er sieht allerdings in dem Auftreten beim Menschen ein Warnungssignal darin, da durch die Untersuchungen Bauers festgestellt wurde (an der Katze), daß verschiedene Digitaliskörper (I. und II. Ordnung) zu Myocardschäden führen können. Korth und Spang sind auf Grund vergleichender Untersuchungen mit allerdings überletalen Dosen zu dem Schluß gekommen, daß zwischen Senkung

des Zwischenstücks und morphologischen Veränderungen kein Zusammenhang besteht. Sie stellten enge Beziehungen fest zwischen Grad der EKG-Veränderungen des ST vom Infarkttyp und Nekrosenbildungen im Herzmuskel. Bei allen diesen Untersuchungen sollte man sich aber immer darüber, klar sein, daß sie an Tieren mit normalen Herzen und verhältnismäßig ungewöhnlich hohen Glykosiddosen gemacht worden sind. Vergleiche die wir dann mit Ergebnissen am Menschen ziehen, mit gleichartigen Veränderungen, sollten nur mit großer Vorsicht geschehen. Die Beziehungen zwischen bestimmten EKG-Veränderungen und morphologischen Veränderungen setzten auch eine sehr genaue bzw. enge Kontrolle der Versuchstiere voraus. Wie wir in Mitteilung V zeigen konnten, bestehen z. B. zwischen der Reizbildung durch heterotope Zentren und der Dauer dieser Erscheinungen enge Beziehungen zu den morphologischen Veränderungen; dabei genügt es, daß dieselben im Vergiftungsverlauf nur einige Stunden in Erscheinung getreten sind, um nachher Nekrosen zu finden. Die Ausdrucksform des EKG kurz vor dem Tode, wenn Nekrosen verursacht worden sind, kann dann sehr vielfältig sein.. Ein Vergleich von EKG-Ausdrucksformen als Folge tötlicher oder toxischer Vergiftungen mit gleichartigen Erscheinungen, die wir beim Menschen unter wenigen pathologischen Umständen finden, gemahnt zur Vorsicht. Da wir bei unseren Versuchen beobachteten, daß u. U. Veränderungen der Endschwankung erst bei relativ hohen Dosierungen auftreten (besonders im Hinblick auf therapeutische Dosen), ja selbst bei toxischen Dosen gar keine, so ist dies eine weitere Warnung, Vergleiche zwischen Tier und Mensch vorsichtig zu ziehen. Sehr wesentlich ist dabei auch das unterschiedliche Verhalten von gesunden und insuffizienten Herzen, denn letztere reagieren bekanntlich besonders leicht mit Formveränderungen.

1. Die verschiedenen Formveränderungen der Endschwankung.

Wir geben zunächst eine Übersicht der von uns beobachteten verschiedenartigen Formveränderungen durch die Einwirkung von Digitoxin auf das Katzenherz.

1. Keine Formveränderungen,
2. abgeflachtes T in Abl. 1, 2; 2, 3,
3. abgeflachtes T in Abl. 1, 2, 3,
4. isoelektrisches T in Abl. 1, 2, 3,
5. Senkung des Zwischenstückes in Abl. 3,
6. Senkung des Zwischenstückes in Abl. 2, 3,
7. Senkung des Zwischenstückes in Abl. 1, 2, 3,
8. hohes spitzes T in Abl. 1, 2, 3,
9. negatives T in Abl. 1, 2, 3; 2, 3; 3,
10. erhöhte Abgänge
    a) erhöhter Abgang von der aufsteigenden S-Zacke,
    b) erhöhter Abgang von der absteigenden R-Zacke.

Wie die Zusammenstellung zeigt, war die Art der Veränderungen vom Standpunkt der Digitoxinwirkung betrachtet außerordentlich verschieden. Welchen Einfluß hat nun die Dosierung und wie ist das Verhalten im Laufe der Vergiftung?

a) Einfluß der Dosierung.

Die Wirkung einer bestimmten Menge Digitoxin ist abhängig von der Höhe der Dose und der Empfindlichkeit des Organismus, dem sie verabreicht wird. Würden wir die Wirkung kurvenmäßig festlegen, so ergäbe sich nach unseren Versuchen oft eine wellenförmige Kurve. Dieser Vergiftungsverlauf kann nicht nur durch einmalige höhere Dosen, sondern auch durch einmalige mittlere und sogar kleine verursacht werden. Bei unseren neuesten Versuchen stellten wir fest, daß auch bei mittleren und kleinen Dosen sofort nach i. v. Injektion (subcutan 5—10 Minuten) eine starke (oft negative T) sich innerhalb von Minuten steigernde Digitoxinwirkung auftritt, die dann allmählich innerhalb von 2—6 Stunden zurückgehen kann und nach 24 Stunden z. B. gegenüber 6 Stunden wieder stärkere (sekundäre) Wirkung zeigen kann (Abb. 1). Eine Kontrolle zur Feststellung der Formveränderungen hat also den Zeitpunkt, in welchem die Veränderungen festgestellt wurden, besonders bei kleineren Dosen zu berücksichtigen. EKG. nur nach 24 Stunden angefertigt können u. U. ein vollständig falsches Bild über eine zu dieser Zeit noch nachweisbare Digitoxinvergiftung geben.

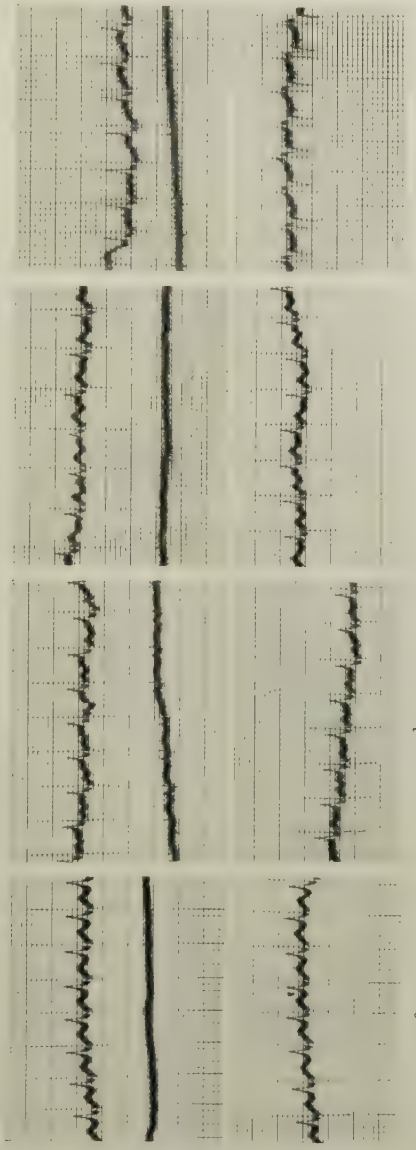


Abb. 1. EKG-Ausschnitte von Kontrollen nach einer mittleren Dose (0,1 mg/kg): a) Ausgangs-EKG, T_1 flach, T_3 und T_3 stark positiv; b) nach 2 Stunden: T_3 stark negativ, T_2 angedeutet negativ, T_3 unverändert; c) nach 6 Stunden: T_2 und T_3 wieder positiv, Ausgangs-EKG erreicht; d) nach 23 Stunden; angedeutet negativ T_3, T_2 abgeflacht.

So fanden wir bei unseren kleinsten Dosen (0.025 mg/kg) als Ausdruck der Digitoxinwirkung nach 24 Stunden nur in einem Falle noch eine sehr geringgradige Formveränderung der Endschwankung. Die nächst höhere Dose von 0,05 mg/kg ergab in allen Fällen, in denen sie im Beginn (innerhalb der ersten 2 Stunden) der Vergiftung kontrolliert wurde, eine stärkere Formveränderung, meist sogar Umkehr der T-Zacke, oder stärkere Senkung des Zwischenstückes. Hierbei war wie auch sonst anfangs eine Bevorzugung von T_3 zu beobachten. Die Befunde nach 24 Stunden zeigten überwiegend keine Veränderungen mehr, es fanden sich vereinzelt noch Erhöhungen von T in allen Ableitungen, isoelektrisches T und eine stärkere Senkung von ST in Abl. 3. Bei einem Tier, das innerhalb von 12 Stunden an den Folgen der Vergiftung starb, wurde eine Umkehr der T-Zacke in allen Ableitungen gefunden, aber auch hier einen Rückgang der Veränderungen nach 6 Stunden (Abb. 2). Es kam auch vor, daß ein anfangs negatives T nach 24 Stunden ausgeglichen war. Bei den nächst höheren Dosen (0,07, 0,08 und 0,1 mg/kg), die einmalig gegeben als nicht toxisch zu bezeichnen sind, beobachteten wir entsprechend der größeren Glykosidmenge pro kg bei fast allen Tieren nach 24 Stunden noch Veränderungen; es gab Senkungen von ST, Abflachungen von T, Vergrößerungen von T und ganz vereinzelt negatives T.

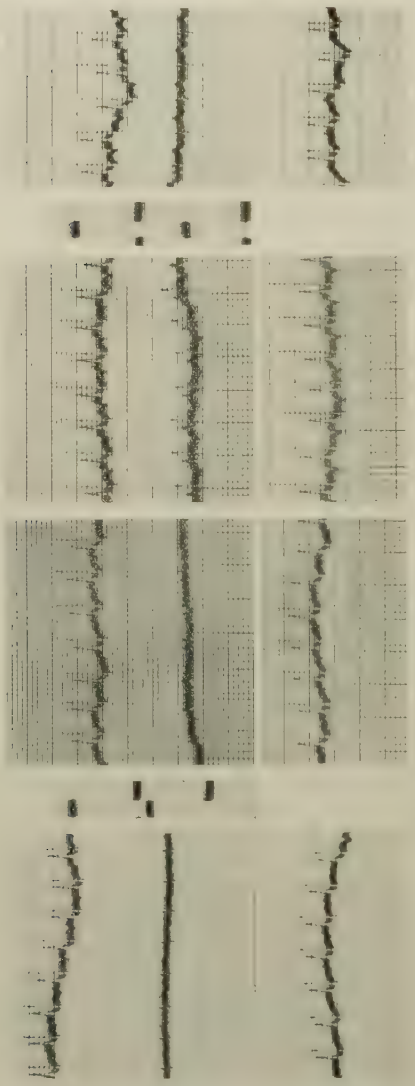


Abb. 2. EKG-Ausschnitte von Kontrollen nach einer kleinen Dose (0,05 mg/kg) nach 1,5 Stunden: a) Ausgangs-EKG: T_1 positiv, T_2 und T_3 angedeutet negativ; b) T_1, T_2, T_3 abgeflacht, Ausschläge vergrößert (vgl. Eichkurve); c) nach 4 Stunden: T in allen Abl. negativ; d) nach 6 Stunden: gegenüber Ausgangs-EKG, das fast wieder erreicht, T_3 noch etwas negativ, T_1 wieder positiv.

Subletale Dosen (also toxische) bewirken praktisch in allen Fällen eine Umkehr der T-Zacke in Abl. 2 und 3, und zwar wurde diese Umkehr schon innerhalb der ersten 6 Stunden beobachtet. In einem Fall trat nur eine Senkung des Zwischenstückes ein. Daß aber vielleicht innerhalb der Zeit, in der wir nicht kontrolliert hatten, auch eine Umkehr der Endschwankung vorübergehend in Erscheinung getreten war, ist zu bedenken.

b) Verhalten der Endschwankung im Laufe einer Digitoxinvergiftung.

Bei kleineren und mittleren Dosen war nach 48 Stunden bei den meisten Katzen keine Veränderung mehr zu beobachten. Ausnahmen waren negatives T_2 und T_3, sowie Senkung von ST bei diphasischem T, was in zwei Fällen nach 3 und sogar nach 8 Tagen noch beobachtet wurde (beides empfindliche Tiere). Schwerere Störungen, die nach 2 und 4 Tagen beobachtet wurden, sind schon in Mitteilung V erörtert. Bei den subletalen Dosen begann die in den ersten Stunden nach Injektion auftretende Umkehr der T-Zacke meist in Abl. 3. Oft wurde zunächst eine Abflachung von T_2 und ein Negativwerden von T_3 beobachtet, einige Zeit später wurde auch T_2 negativ, bei Verstärkung von T_3. Oft ging der negativen Endschwankung eine Senkung von ST voraus oder aber das negative T bildete sich zurück und man sah dann eine Senkung von ST in allen Ableitungen. Am 2. Tag wurden diese Veränderungen meist noch ausgeprägter. Am 3. Tag hatten sie sich bei der Mehrzahl der Tiere wieder weitgehend zurückgebildet. Im weiteren Verlauf können im Sekundärstadium dieselben Veränderungen erneut auftreten, es kann aber auch zu einem erhöhten Abgang der Endschwankung von der abfallenden R-Zacke kommen, also zu einer dem sog. koronaren T sehr ähnlichen Veränderung. Der Lauf dieser Veränderungen ist im allgemeinen für die von uns gewählte subletale Dose üblich. Bei noch höheren Dosen können sich die Verhältnisse stark verschieben, indem alle Veränderungen schon innerhalb von 24 Stunden auftreten können. Weiter wurde am 3. Tag nach vorheriger Umkehr der T-Zacke T in allen Ableitungen wieder positiv und gleichzeitig hoch und spitz gegenüber dem Ausgangs-EKG.

Bei wiederholten kleinen Dosen zeigte die Endschwankung dieselben verschiedenartigen Veränderungen wie bei den subletalen Dosen. Hierbei muß besonders hervorgehoben werden, daß nach der 2. Dose (0,05 mg/kg) bei der Mehrzahl der Tiere Umkehr der T-Zacke auftrat.

Wir haben demnach beim Auftreten von Formveränderungen der Endschwankung, insbesondere negatives T, sehr zu beachten, in welchem Zeitpunkt die Veränderungen beobachtet werden und durch welche Dose sie verursacht wurden. Bei kleineren und mittleren Dosen können sehr frühzeitig schon solche Veränderungen auftreten, ohne daß wir sie als besonders toxische Wirkung bewerten müssen, beobachten wir sie aber später wie 24 Stunden, so können sie schon Ausdruck von Sekundärwirkungen sein,

denen dann sicher eine stärkere primäre Wirkung vorausgegangen ist. Bei wiederholten Dosen sind sie der Hinweis der beginnenden toxischen Wirkung, bei höheren Dosen fast immer Zeichen einer stark toxischen Wirkung.

2. Zur Frage der Deutung der Formveränderungen der Endschwankung.

Belastungs- und Unterdruckversuche sowie direkte Sauerstoffmangelatmung an Tier und Mensch haben sehr ähnliche Formveränderungen der Endschwankung ergeben, die mit steigender Wirkung auch gewisse Gesetzmäßigkeiten zeigen (Dietrich und Schwiegk, Büchner u. Mitarbeiter, Opitz und Tillmann, Liechti, Rühl, Reindell). Diese etwas verschiedenen Versuchsbedingungen haben gemeinsam die gestörte Stoffwechsellage, bei der der Sauerstoffbedarf des belasteten Herzens im Vordergrund steht, und ein Mißverhältnis zwischen diesem Bedarf und seiner Versorgung besteht. Büchner stellte bei seinen Tierversuchen (Kaninchen) in der Folge morphologische Veränderungen am Herzmuskel fest, gleichartig denjenigen am Katzenherzen nach Digitalis.

Wenn wir im Rahmen dieser Arbeit zur Frage der Myocardschädigung Stellung nehmen, so glauben wir an Hand unserer Tierversuche einiges beitragen zu können. Wir sind uns dabei bewußt, daß die im Tierversuch gewählten Versuchsbedingungen gegenüber gleichartigen Versuchen am Menschen verhältnismäßig viel stärkeren Eingriffen entsprechen, dabei muß auch noch auf die verschiedene Reaktionsweise einzelner Tierarten hingewiesen werden.

Wir haben gesehen, daß schon nach kleinen Dosen ähnliche Veränderungen im EKG, wie man sie bei Myocardschäden findet, auftreten können; diese bilden sich aber wieder zurück und Myocardschäden (Nekrosen) werden nicht gefunden. Beobachten wir aber diese Veränderungen im Anschluß an eine stärkere Anfangswirkung über längere Zeit, so finden wir bei der Mehrzahl Herzmuskelschäden. Die Voraussetzung zu solchen wäre demnach eine gewisse Dauer einer bestimmten Wirkungsstärke. Die kurzdauernden Wirkungen führen demnach zu vorübergehenden Störungen, innerhalb der Herzmuskelzelle, während die länger dauernden oder irreversiblen zum Zelltode mit anschließender Vernarbung führen können, deren einzelne Stadien sich wahrscheinlich durch verschiedenartige EKG-Formveränderungen kennzeichnen. Die Ausdrucksform des EKG für diese reversiblen und irrversiblen Störungen ist oft sehr ähnlich, ja manchmal gleichartig, so daß wir bis jetzt nicht in der Lage sind, bei einmaliger Kontrolle zu unterscheiden, ob es sich um vorübergehende oder längerdauernde Störungen handelt.

Ein Wort wäre noch zu sagen zu den gleichartigen morphologischen Veränderungen bei der Katze und Kaninchen durch ungleiche Versuchsbedingungen. Wir haben hier auf der einen Seite ein digitalisempfindliches Tier und auf der anderen Seite ein in der Atmung sehr labiles. Dazu

kommt noch, daß es sich bei den Kaninchen meist um im Stall groß gewordene Tiere handelt, die also körperlichen Anstrengungen nicht angepaßt sind. Bei Katzen ist es z. B. bekannt, daß frische Tiere gegen Digitalis weniger empfindlich sind gegenüber solchen, die längere Zeit im Stall waren.

Wenn alle diese Veränderungen der Endschwankung durch einen gewissen Sauerstoffmangel der Herzmuskelzelle bedingt sind — und Digitalis verursacht dieselben Veränderungen —, so kann man darin vielleicht eine Stütze der reinen Muskelwirkung, die indirekt eine Vagusbeeinflussung (im Sinne Straubs) bewirkt, sehen. Da der Begriff der Coronarinsuffizienz vielfach mit diesen Veränderungen in Zusammenhang gebracht wird, sind die Mitteilungen Hildebrands (Pharmakologentagung 1938) über die akute Verengung der Coronarien durch Strophanthin in diesem Zusammenhang höchst beachtenswert.

Zusammenfassung.

1. Bei den Formveränderungen der Endschwankung durch Digitalis ist zu trennen in solche, die durch kleine und solche die durch große (toxische) oder wiederholte Dosen verursacht werden. Bei ersteren ist die Feststellung des Zeitpunktes nach der Dose, in welchem sie beobachtet werden, und ihre Dauer für die Beurteilung ihrer Wirkung besonders wichtig, dabei sind Senkungen von ST oder negativem T in mehreren Ableitungen als ein stärkerer Wirkungsgrad zu bewerten.

2. Es wird das Verhalten der Formveränderungen der Endschwankung im Laufe der Digitoxinvergiftung durch verschieden hohe Dosen beschrieben.

3. Es wird zur Frage der Myocardschädigung Stellung genommen. Dabei wird unterschieden zwischen kurzdauernden Veränderungen ohne nachherige morphologische Veränderungen und länger dauernden Veränderungen mit späteren morphologischen Veränderungen. Bei letzteren ist Voraussetzung die Dauer einer gewissen Wirkungsstärke.

Schrifttum.

Aschenbrenner: Verh. d. Ges. f. inn. Med. **1936**; Klin. Wschr. **1936**, II, S. 1039; Z. klin. Med. **1937**, S. 132. — Berliner: Amer. Heart J. **7**, 189 (1931). — Blumenfeld u. Strauss: Z. klin. Med. **113**, 73 (1930). — De Boer: Pflügers Arch. **173**, 78 (1919). — Brams: Arch. int. Med. **43**, 676 (1929); Brams u. Gabermann: Amer. Heart J. **6**, 804 (1931). — Büchner: Beitr. z. path. Anat. **89**, 644 (1932); **92**, 311 (1933). — Büchner u. v. Lucadou: Klin. Wschr. **1933**, S. 473; Beitr. z. path. Anat. **93**, 179 (1934). — Christ: Beitr. z. path. Anat. **94**, 111 (1934); Büchner: Klin. Wschr. **1932**, S. 1737. — Cheer, S. N.: Proc. Soc. exper. Biol. and Med. **28**, 856 (1931). — Cheer u. Dieuaide: J. clin. Invest. **11**, 1241 (1932). — Coelho: C. r. Soc. Biol. Paris **100**, 518 (1929). — Cohn, A. C., Fraser, Jannieson: J. of exper. Med. **21**, 593 (1915). — Cohn u. Levy: Proc. Soc. exper. Biol. and Med. **17**, 81 (1920). — Dietrich u. Schwiek: Klin. Wschr. **1933**, I, S. 135; Z. klin. Med. **125**, 195 (1933). — Fischer, R.: Verh. d. Ges. f. Kreislaufforsch. **1931**, S. 73. — Gold u. Hitzig: Amer. Heart J. **6**, 237 (1930). — Grünbaum: Z. klin. Med. **116**, 746 (1931); **120**, 415 (1932). — Halsey: J. of exper. Med. **25**, 729 (1917). — Herles,

Fr.: Z. Kreislaufforsch. **23**, 485 (1931). — Hoekstra u. Schleussing: Z. exper. Med. **90**, 36 (1933). — Kahlson: Verh. d. Ges. f. inn. Med. **1928**, S. 421. — Kisch: Klin. Wschr. **1932**, S. 1875. — Korth u. Spang: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 349 (1937). — Langen u. Sampson: Proc. Soc. exper. Biol. and. Med. **29**, 735 (1932). — Laubry u. Deglaude: C. r. Soc. Biol. Paris **91**, 1236 (1924); Walser u. Deglaude: Amer. Med. **20**, 288 (1926). — Liechti: Inaug. Diss. Zürich 1934. — Levine u. Cunningham: Arch. int. Med. **26**, 293 (1920). — Opitz u. Tillman: Luftfahrtmedizin **1**, 153 (1936). — Pardee: J. amer. Assoc. **75**, 1285 (1920). — Planelles u. Werner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **96**, 21 (1923). — Pietrowski: Ebenda **81**, 35 (1917). — Robinson u. Wilson: J. of Pharmacol. **10**, 491 (1918). — Rühl: Z. f. Kreislaufforsch. **30**, 393 (1938). — Scherf: Lehrbuch der Elektrocardiographie; Wien. klin. Wschr. **1927**, Nr. 13. — Schellong: Z. exper. Med. **75**, 776, 789 (1930); Verh. d. Ges. f. inn. Med. **1936**, S. 288; Schellong u. Stelzer: Dtsch. med. Wschr. **1936**, S. 1785, 1828. — Takumura: Acta Scholae med. Kioto **14**, 173 (1931). — Tijpp: Acta brev. neerl. Phisiol. **2**, 79 (1932). — Weber: Dtsch. med. Wschr. **1937**, Nr. 11. — White u. Sattler: J. of exper. Med. **23**, 613 (1916). — Winternitz: Z. f. Kreislaufforsch. **23**, 452 (1931); Z. klin. Med. **119**, 632 (1932).

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Jena (Direktor: Prof. Dr. W. H. Veil.)

Die stufentonosphygmographische Analyse der Kreislaufwirkung des Veritols*.

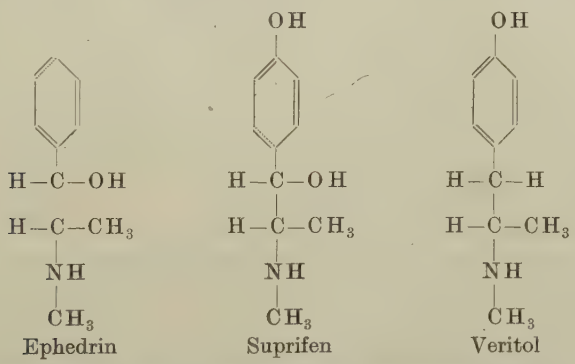
Von

A. Sturm und **H. Voges.**

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Oktober 1938.)

Veritol (Knoll) gehört seiner chemischen Natur nach zu den Oxyephedrinen, wobei auf Grund der Parastellung der Hydroxylgruppe im Benzolring des Ephedrinkörpers von vornherein ein ephedrinähnlicher Charakter (mit besonderem Hervortreten der primären Herzwirkung und Zurücktreten der Gefäßwirkung) erwartet werden konnte (siehe hierüber bei Schaumann[1], Rühl[2], Sturm[3]). Besonders nahe Verwandtschaft hinsichtlich der chemischen Konstitution besteht zwischen Veritol und dem ebenfalls erst jüngst in die Kreislauftherapie eingeführten Suprifen (Merck). Vergleiche die Konstitutionsformeln:



Wenn auch Veritol von klinischer und pharmakologischer Seite vielfach in seinen Kreislaufwirkungen studiert wurde, so war doch bisher die Frage, wie weit die tierexperimentell gewonnenen Anschauungen über den pharmakologischen Effekt des Veritols auch für den Menschen gültig ist, nur indirekt (über den Weg des klinischen Versuchs mit seinen nur mittelbaren Schlußfolgerungen) diskutiert worden. Zur direkten Analyse der Veritolwirkung beim Menschen wurde daher in Fortsetzung der Kreislaufstudien Sturms[3] an Oxyephedrinen die optische Stufentonosphygmographie[4] verwendet.

* D. 27.

[1] Schaumann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **160**, 127 (1931). — [2] Rühl: Ebenda **164**, 8 (1932). — [3] Sturm, Gietz u. Kempte: Ebenda **183**, 364 (1936). — [4] Sturm: Z. f. d. ges. exper. Med. **96**, 579 (1935).

Hierbei war die Versuchsanordnung dieselbe wie bei der Prüfung von Ephedrin, Sympatol, Stryphnon, Suprifen, Adrenalin usw., d. h. Anfertigung des Tonosphygmogramms vor Beginn des Versuchs an einem ruhenden, nüchternen Menschen, darauf perorale oder parenterale Verabreichung des Kreislaufmittels, wiederholte neue optische Spannungspulsschreibungen in kurzen Zeitabständen bis zu 2 Stunden nach Beginn des Versuchs, Auswertung der Tonosphygmogramme hinsichtlich ihrer Kriterien für Gefäßtonus, diastolischen, gestaut und ungestaut systolischen Grenzpunkt und Diskussion der Versuchsergebnisse in einem die Bewegungen der einzelnen Kreislaufgrößen schematisch darstellenden Diagramm.

Versuchsreihe I.

An 21 klinischen Patienten wurde in insgesamt 140 Stufentonosphygmogrammen die Analyse der Kreislaufwirkung einer subcutanen bzw. intramuskulären Veritolinjektion von 1 ccm durchgeführt. Die Tabelle 1 gibt die wichtigsten Veränderungen im wahren (ungestauten) Blutdruckmaximum, im Schlagvolumen (beurteilt aus der wahren Blutdruckamplitude) und im Gefäßtonus, d. h. im Spannungszustande der Arteriolen des Meßbereichs, wieder.

Ein Überblick zeigt, daß in 90% aller untersuchten Fälle 20 bis 40 Min. nach Veritolinjektion ein erheblicher, etwa einstündiger, wahrer Blutdruckanstieg, der im Durchschnitt 44 mm Hg beträgt, einsetzt. Fragen wir uns nach der Ursache der Blutdrucksteigerung, so erkennen wir, daß es sich in erster Linie um eine primäre Herzwirkung, und zwar vorwiegend im Sinne einer Vergrößerung der Blutdruckamplitude handelt. Das arterielle Gefäßsystem kann hierbei trotz deutlichen Blutdruckanstiegs unveränderten Tonus bewahren. Es beginnt also die Veritolwirkung mit einem vermehrten venösen Zufluß zum Herzen und einer daraus resultierenden Leistungssteigerung der systolischen Kontraktion.

Dieser Kreislaufeffekt des Veritols kann nicht nur bei normaler Blutdrucklage, sondern auch bei erheblicher essentieller Hypertonie, bei der unter Veritol der Blutdruck noch weiter ansteigt (siehe Fall 15), beobachtet werden. Bei einer Hypothyreose verzögerte sich die Veritolreaktion um etwa 20 Minuten. Nur bei einem schweren, konstitutionellen Neurastheniker und Psychopathen, sowie bei einem jugendlichen Rekonvalenszenten nach Nierenentzündung fehlte (aus unbekannten Gründen) fast jede Veritolwirkung auf die systolischen Blutdruckgrößen (siehe Fall 4 und 6).

Daß Veritol durchaus nicht ganz gefäßunwirksam ist, zeigte sich in zweifacher Hinsicht: 1. Jene Menschen, die von vornherein ein reizbares Gefäßsystem besitzen, so vegetativ Stigmatisierte mit Thyreotoxikose, Ulcus des Magen-Darmkanals oder rheumatischer Infektion, können Veritolgaben mit arterieller Vasokonstriktion beantworten. Dabei kommen die Gefäßreaktionen meist etwas später als die Herzsystolensteigerung, die aber dann mit dem Einsetzen der Verstärkung des arteriellen Gefäßwiderstandes noch weiter in die Höhe getrieben wird, so daß bisweilen Veritol innerhalb 20 Minuten einen geradezu beängstigenden Blutdruckanstieg

Tabelle 1.

Nr.	Alter, Geschlecht, klinische Diagnose	Veritol subc. in ccm	Ruheblutdruck und Gefäßtonus*			Veritolwirkungen auf wahre Systole (a), wahre Blutdruckamplitude (b) und auf Gefäßtonus*												Subjektive Beschwerden
						Minuten nach Injektion												
						5		10—20		30—40		50—60		80—90		100 120		
			di	sy	s	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	
1	33 Jahre, ♂	1	55	105	120	+ 10		+ 50		+ 70		+ 40		—		0		
	latente Tetanie			III		III	+ 10	V	+ 40	V	+ 50	IV/V	+ 30		—	III	0	keine
	chron. Appendiz.																	
2	38 Jahre, ♂	1	65	115	115**	0		+ 20		+ 40		— 10		—		— 10		
	Gastritis			III		III	0	III	+ 30	III	+ 20	III	— 10		—	III	0	„
	Psoriasis																	
3	29 Jahre, ♂	1	65	110	120	— 5		+ 5		+ 35		+ 5		— 5		— 5		
	Hypothyreose			III		III/IV	— 5	III	+ 5	III	+ 35	III	+ 5	III	5	III	— 5	„
4	33 Jahre, ♂	1	55	105	130	— 10		0		0		0		—		0		
	schwere			I		II	— 10	I	— 5	I	— 20	I	— 15		—	I	— 15	„
	Neurasthenie																	
5	17 Jahre, ♂	1	55	115	125	+ 15		+ 30		+ 20		— 10		—		0		
	Aorteninsuf-			II		II	+ 15	II	+ 20	I/II	+ 10	I/II	— 15		—	I	0	„
	fizienz																	
6	19 Jahre, ♂	1	65	125	145	0		0		0		— 5		0		0		
	subakute Glo-			III		III	+ 10	III	+ 20	III	— 5	III	0	III	0	III	— 10	„
	merulonephr.																	
7	48 Jahre, ♂	1	75	145	145	0		+ 40		+ 25		0		—		0		
	Ulcus duodeni			V		V	0	VI	+ 30	V	+ 15	V	— 10		—	V	0	„
8	16 Jahre, ♂	1	65	135	135	—		+ 15		+ 10		+ 5		— 30		— 35		
	akute Gastro-			II		—	—	III	+ 5	IV	— 10	III	— 15	II	— 20	II	— 25	„
	enteritis																	
9	32 Jahre, ♂	1	65	120	120	+ 5		+ 10		+ 25		— 15		— 25		— 25		
	Gastritis			III		III/IV	+ 5	III/IV	+ 10	IV	+ 15	III	— 15	II/III	— 25	II	— 25	„
10	37 Jahre, ♂	1	75	120	125	+ 15		+ 25		+ 15		— 15		—		— 15		
	Ulcus duodeni					III/IV	+ 5	IV	+ 25	III	+ 25	II/III	— 5	—	—	II	— 15	„

* Typenbezeichnung des Gefäßtonus siehe Zeichenerklärung zu Abb. 1; Definition „Gefäßtonus“ siehe bei Sturm: Z. f. d. ges. exp. Med. **97**, 717 (1936). — ** sy = s, d. h. ungestaute und gestaute Systole fallen in einem Punkt zusammen; Stauüberdruck ist nicht vorhanden.

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Nr.	Alter, Geschlecht, klinische Diagnose	Veritol subc. in ccm	Ruheblutdruck und Gefäßtonus*			Veritolwirkungen auf wahre Systole (a), wahre Blutdruckamplitude (b) und auf Gefäßtonus												Subjektive Beschwerden
						Minuten nach Injektion												
						5		10—20		30—40		50—60		80—90		100—120		
			di	sy	s	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	
11	53 Jahre, ♂	1	65	125	125	0		+ 30		+ 50		+ 10		—		— 10		
	Gastritis			IV/V		V	— 10	VI	+ 30	VI	+ 55	IV/V	+ 10		—	IV	0	keine
12	23 Jahre, ♂	1	80	145	145	0		+ 10		— 5		— 10		—		— 40		
	Gastroenteritis			III		III	— 5	III/IV	— 5	III	— 15	III	— 15			II/I	— 25	„
13	16 Jahre, ♂	1	65	125	125	+ 10		+ 65		+ 60		— 5		—		— 5		
	Thyreotoxikose			II		II/III	+ 15	V	+ 35	V	+ 40	VI	— 15		—	II	— 5	„
14	31 Jahre, ♂	1	70	125	135	— 20		+ 25		+ 40		+ 10		—		0		
	Neurasthenie			III		III/IV	— 15	IV	0	IV	+ 15	IV	— 10		—	IV	— 25	„
15	57 Jahre, ♂	0,8	85	205	205	0		+ 20		+ 30		—		— 40		— 55		
	Ischias, Hypertonie			VI		VI	0	VI	+ 25	V/VI	+ 30	—	—	VI	— 50	V	— 65	„
16	32 Jahre, ♂	2	65	115	115	+ 10		+ 30		+ 70		+ 35		— 10		— 20		
	Gastritis			III		III	— 10	V	+ 10	V	+ 40	III	+ 5	II I	10	II/I	20	Erbrechen, Kopfschm., Schwindel, Kälte in Händen und Füßen
17	40 Jahre, ♂	1	55	95	95	+ 10		+ 30		+ 20		0		—		—		
	Spondyl. def. Ischias			II		III ?	0	III	+ 10		+ 10	—	—		—		—	keine
18	54 Jahre, ♂	1	55	85	105	+ 50		+ 90		+ 90		+ 90		+ 80		+ 40		
	Vegetative Neurose, Asthenie			II		V	+ 40	V	+ 70	V	+ 60	V	+ 70	V	+ 60	III/IV	+ 20	Brechreiz, Kopfschm., Kälte in Händen und Füßen
19	29 Jahre, ♂	1	75	115	135	+ 70		+ 100		+ 90		+ 20		— 10		—		
	Ulcus ventric.			II		IV	+ 70	V	+ 60	IV/V	+ 60	III	0	II/III	— 10		—	keine
20	23 Jahre, ♂	1	65	115	115	+ 20		+ 10		+ 20		+ 10		0		— 5		
	Gastritis			II		I/II	+ 20	II	0	II	+ 20	II/III	0	I	— 10	II	— 5	„
21	17 Jahre, ♂	1	75	125	135	+ 20		+ 50		+ 30		— 10		—		— 20		
	Ikterus			III		III	+ 20	III/IV	+ 40	III	+ 20	II	0		—	II	0	„

um 70—100 mm Quecksilber hervorrufen kann. In diesen Fällen setzen auch erhebliche subjektive Beschwerden nach Veritolinjektion ein; so klagten die Patienten über Brechreiz, Kopfschmerz, Schwindel und Paraesthesien in Händen und Füßen.

2. Ein normales Gefäßsystem reagiert, wie A. Sturm und Mitarbeiter wiederholt feststellten, auf eine wahre Blutdrucksteigerung mit einem peripheren Gefäßweitungsreflex (siehe Kreislaufreaktionen bei Treppensteigen[5], bei Suprifen-Gaben[6]!). In den Veritolversuchen der Versuchsreihe I

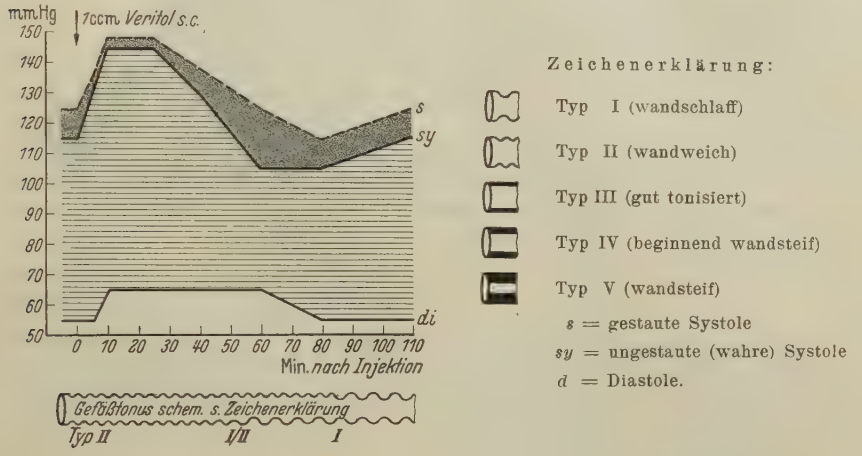


Abb. 1.

fehlten die peripheren Gefäßweitungsreflexe trotz erheblicher Blutdruckanstiege recht weitgehend. Nur vereinzelt konnte 40—60 Minuten nach Injektion eine geringe Gefäßerschlaffung, die eine negative Wirkungsphase mit Blutdruckabfall und Schlagvolumenverkleinerung zur Folge hatte, nachgewiesen werden.

Die Einwirkung von Veritolgaben auf die Herzfrequenz ist gering. In etwa der Hälfte der Fälle setzte mit dem Maximum der Veritolwirkung eine leichte Bradykardie ein; Tachykardien nach Veritol wurden nie beobachtet.

Zur näheren Demonstration der Veritolwirkung im Einzelfall seien aus den 21 Versuchen folgende 4 Beispiele ausgewählt, die die wichtigsten Verlaufsmöglichkeiten der Veritolreaktionen veranschaulichen:

Beispiel 1 (siehe Abb. 1). Versuchsreihe I, Versuch 5, ♂, 17 Jahre, Aorteninsuffizienz.

Diskussion des Diagramms. 5 Minuten nach Veritolinjektion wahrer Blutdruckanstieg, der nach 10 Minuten sein Maximum mit + 30 mm Hg erreicht, während das schlaffe Gefäßsystem keine Tonusänderung aufweist. Parallel der

[5] Sturm u. Ender: Z. f. d. ges. exper. Med **97**, 715, (1936). — [6] Sturm u. Stückmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 287 (1937).

systolischen Erhöhung geht die Vergrößerung des Schlagvolumens. Nach 50 Minuten setzt eine leichte periphere Gefäßweitung unter Absinken des Blutdrucks ein; nach 100 Minuten sind die Ausgangswerte von Systole und Diastole wieder erreicht.

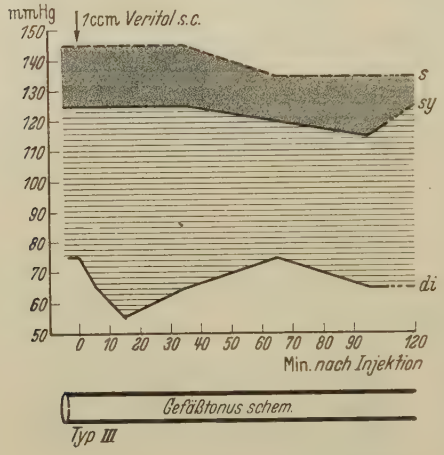


Abb. 2.

Beispiel 2 (siehe Abb. 2). Versuchsreihe I, Versuch 6, ♂, 19 Jahre, abklingende Glomerulonephritis. Veritol bedingt nur eine Senkung der Diastole und damit eine Vergrößerung des Schlagvolumens ohne Änderung der Systole und des peripheren arteriellen Gefäßtonus.

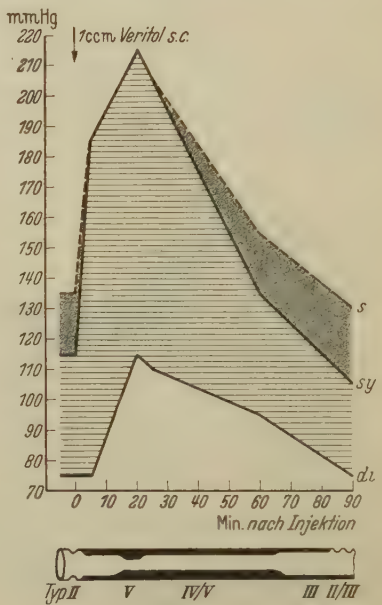


Abb. 3.

Beispiel 3 (siehe Abb. 3). Versuchsreihe I, Versuch 19, ♂, 29 Jahre, Ulcus ventriculi und rheumatische Infektion mit Neigung zu allergischen Gefäßreaktionen. Nach Veritolinjektion setzt sprunghaft eine gewaltige Blutdrucksteigerung und Schlagvolumenvergrößerung bei gleichzeitiger Gefäßsteifung ein. Das Maximum der Reaktion liegt bei 20 Minuten nach Injektion mit einer systolischen Erhöhung um 100 mm Hg und einer Umwandlung des Gefäßtonus von „wandweich" (Typ II) nach „wandsteif" (Typ V).

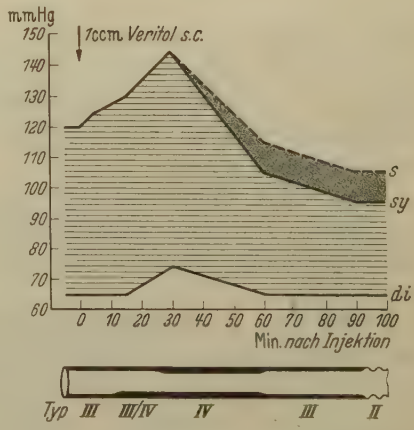


Abb. 4.

Beispiel 4 (siehe Abb. 4). Versuchsreihe I, Versuch 9, ♂, 32 Jahre, Gastritis. Veritol hat einen langsamen Blutdruckanstieg zur Folge, der nach 30 Minuten maximal 25 mm Hg beträgt, während gleichzeitig sich eine leichte Gefäßsteifung (Übergang von Gefäßtyp III nach Gefäßtyp IV) bemerkbar macht. Nach 60 Minuten kommt es zur Blutdrucksenkung mit Gefäßweitung, die noch nach 100 Minuten erkennbar ist (= Zweiphasentyp).

Versuchsreihe II.

Die perorale Veritoldarreichung (in Tropfenform) ergab in 3 von 5 Fällen fast dieselben Kreislaufreaktionen wie die subcutane Veritolinjektion. Es beweisen diese Versuche die gute, rasche und unveränderte, enterale Veritolresorption. Bereits bei 25 Tropfen 3%igen Veritols kann sich ohne besondere Gefäßsteifung ein deutlicher wahrer Blutdruckanstieg einstellen, der wiederum nach 30—40 Minuten sich im Gipfelpunkt befindet. In 2 Fällen blieb Veritol zunächst wirkungslos; nach 50 Minuten erfolgte eine langsame Blutdrucksenkung.

Die Tabelle 2 gibt die beobachteten Kreislaufreaktionen zahlenmäßig wieder.

Versuchsreihe III.

Bei intravenöser Veritolgabe (0,25—0,5 ccm) erreichte die Veritolwirkung (wahrer Blutdruckanstieg ohne oder mit gleichzeitiger Gefäßsteifung) bereits innerhalb 3—5 Minuten ihr Maximum, dem sehr rasch eine negative Phase mit Blutdruckabfall und Gefäßweitung folgte. Die Stärke der Reaktion ist nicht größer als bei subcutaner Injektion. In 2 von 6 Fällen fehlte sogar jeder blutdrucksteigernde Effekt des Veritols trotz intravenöser Gabe. Es ließen diese negativen Fälle lediglich eine späte sekundäre Blutsenkungsphase erkennen (siehe Tabelle 3).

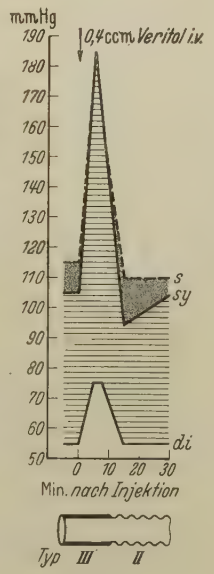


Abb. 5.

Abb. 5 (Versuchsreihe III, Versuch 3, ♂, 38 Jahre, Ulcus duodeni) zeigt die rasch einsetzende reine Herzwirkung des Veritols mit sekundärer Gefäßweitung und Blutdruckabfall.

Die stufentonosphygmographische Analyse des Veritols am Menschen bestätigt in weitgehendem Maße die aus tierexperimentellen und klinischen Studien abgeleiteten Wirkungsmechanismen des Veritols:

Sie zeigt insbesondere, daß auch beim Menschen die Ergebnisse der für die Einführung des Veritols in die Kreislauftherapie grundlegenden Hundeversuche Reins[7] gültig sind. Die im Vordergrund der menschlichen Veritolwirkung stehende Schlagvolumenvergrößerung wurde inzwischen von Meyer und Spiegelhoff[8] durch Schlagvolumenbestimmung (nach der Broemser-Methode), von Dieckhoff[9], Schneider und Kopp[10], Schöndorf[11] u. a. durch Bestimmung der zirkulierenden Blutmenge (nach

[7] Rein, Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 617 (1937). — [8] Meyer u. Spiegelhoff: Klin. Wschr. **1937**, Nr. 39, S. 1342. — [9] Dieckhoff: Ebenda **1937**, Nr. 33, S. 1154. — [10] Schneider u. Kopp: Ebenda **1937**, Nr. 48, S. 1672. — [11] Schöndorf: Münch. med. Wschr. **1938**, Nr. 9, S. 333.

Tabelle 2.

Nr.	Alter, Geschlecht, klinische Diagnose	Veritol per os in Tropfen	Ruheblutdruck und Gefäßtonus*			Veritolwirkungen auf wahre Systole (a), wahre Blutdruckamplitude (b) und Gefäßtonus*									
						Minuten nach peroraler Gabe									
						5		15—20		30—40		60		100	
			di	sy	s	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	53 Jahre, ♂	25	85	150	150**	+ 5		+ 5		+ 40		+ 5		— 15	
	Ulcus duodeni			V		V	+ 15	V	+ 15	V/VI	+ 40	V/VI	+ 15	V	+ 5
2	39 Jahre, ♂	40	55	115	115	0		0		+ 30		+ 20		— 10	
	Ulcus praepyloric.			IV		IV	— 10	III/IV	0	V/VI	+ 30	V	+ 10	IV	— 10
3	44 Jahre, ♂	20	55	125	125	— 5		0		+ 10		— 5		0	
	Neurasthenie			III		III	— 15	III/IV	— 5	III/IV	0	IV	+ 5	III	— 10
	Spondylitis def.														
4	19 Jahre, ♂	30	55	140	140	— 5		0		+ 5		— 25		— 35	
	Herzneurose			II		II	— 10	II	0	II	— 5	II	— 25	II	— 35
5	16 Jahre, ♂	25	55	145	145	—		— 5		0		— 20		— 30	
	Mumps			I/II			—	II	— 5	II	0	II	— 20	I/II	— 30

Tabelle 3.

Nr.	Alter, Geschlecht, klinische Diagnose	Veritol i. v. in ccm	Ruheblutdruck und Gefäßtonus*			Veritolwirkungen auf wahre Systole (a), wahre Blutdruckamplitude (b) und Gefäßtonus*									
						Minuten nach Injektion									
						1—3		6		15		30		60	
			di	sy	s	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	25 Jahre, ♂	0,3	65	100	125	+ 75		+ 50		+ 10		— 5		+ 5	— 5
	Gastritis			III		VI	+ 60	IV	+ 40	II	+ 10	II	— 5	II	
2	38 Jahre, ♂	0,5	75	130	135	+ 5		— 5		— 15		— 15		—	
	Asthma bronchiale			III		III	+ 5	III	— 5	III	— 15	III	— 5		—
3	38 Jahre, ♂	0,4	55	105	115	+ 70		+ 50		— 10		0		—	
	Ulcus duodeni			III		III	+ 50	II	+ 30	II	— 10	II	0		—
4	23 Jahre, ♂	0,3	65	125	135	0		— 10		0		0		—	
	Pleuritis exs.			III		II/III	0	II/III	— 10	III	+ 10	III	0		—
5	24 Jahre, ♂, Proliferative Tbc. pulm.	0,25	65	105	125	+ 40		+ 30		+ 10		0		0	
				II		II	+ 40	II	+ 30	I	+ 10	I	0	I	— 10
6	56 Jahre, ♂	0,3	55	145	145	+ 70		+ 30		— 5		0		— 20	
	Ulcus duodeni			V		V	+ 40	III	+ 10	III	— 25	III	— 20	III	— 30

* und ** s. Anmerkungen Tabelle 1.

der Farbstoffmethode) bewiesen. Gegenüber dem Tierversuch muß in der Humantherapie mit Veritol der individuelle Reaktionsfaktor besonders berücksichtigt werden. Unabhängig von der Dosis kann beim gefäßallergischen Menschen der Veritoleffekt unerwartet drastisch verlaufen. Mit Recht fordern daher Aschenbrenner und Codas-Thompson[12] eine der Besonderheit des Einzelfalls angepaßte Dosierung; für die Angabe dieser Forscher: „besonders die vasolabilen Menschen reagieren auf mittlere Dosen mit ausgesprochener peripherer Vasokonstriktion", ist Fall 19 unserer Versuchsreihe I ein eindrucksvolles Beispiel.

Das Gesamtergebnis der vorliegenden Kreislaufstudie an 32 klinischen Patienten kann dahin zusammengefaßt werden:

Veritol besitzt wie das Ephedrin in erster Linie eine reine Herzwirkung. Die Intensität seiner Wirkung, die sich nicht nur, wie beim Ephedrin, in einer Systolensteigerung, sondern vor allem auch in einer erheblichen Schlagvolumenvergrößerung äußert, ist weit größer als die vom Ephedrin. Daneben ist dem Veritol auch ein mäßiger, individuell sehr variabler vasokonstriktorischer Impuls eigen, der dem Ephedrin weitgehend fehlt.

Im Vergleich zum Suprifen ist Veritol ein wohl ähnlich, aber kräftiger wirkendes Kreislaufmittel, das über den Suprifeneffekt hinaus auch eine nicht unerhebliche Gefäßwirkung entfaltet. Veritol stellt daher eine wichtige Bereicherung der Kreislauftherapie dar.

[12] Aschenbrenner u. Codas-Thompson: Z. klin. Med. **133**, 483 (1938).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Frankfurt a. Main.

Untersuchungen über die Abhängigkeit der Wirkung oestruserzeugender Substanzen vom zeitlichen Verlauf ihrer Zufuhr.

Versuche mit Oestron und Oestradiol an der kastrierten weiblichen Ratte*.

Von

Werner Koll und **Hans Nocken****.

(Eingegangen am 20. Oktober 1938.)

I. Einleitung und Fragestellung.

Für die qualitative Feststellung der Wirksamkeit von Körpern mit „Follikelhormonwirkung", wie sie in den beiden Hormonen Oestron und Oestradiol und ihren verschiedenen Derivaten, sowie einigen verwandten Stoffen, vorliegen, stehen heute verschiedene relativ einfache Testmethoden an verschiedenen Tierarten zur Verfügung.

Quantitative Angaben über die Wirkungsstärke derartiger Stoffe auf Grund biologischer Meßverfahren sind jedoch in mancher Hinsicht mit erheblicher Unsicherheit behaftet. Die erforderliche klare Erkennbarkeit einer Dosis-Wirkungsbeziehung ist nur bei einem Teil der Testverfahren vorhanden. Unter ihnen hat wegen seiner technischen und materiellen Vorteile der Allen-Doisy-Test am Vaginalepithel der kastrierten Ratte oder Maus für wissenschaftliche und praktische Aufgaben seine überragende Bedeutung behalten.

Einige grundsätzlich wichtige Tatsachen, die bei diesen und auch anderen biologischen Auswertungsmethoden für Stoffe mit Follikelhormonwirkung berücksichtigt werden müssen, sind in den letzten Jahren klar herausgearbeitet worden. Sie betreffen in erster Linie den geeigneten Reaktionsgrad des Testorgans, die zweckmäßige Anordnung des Reihenversuchs, den Prozentsatz „positiv" reagierender Tiere, dessen zugehörige Dosis als Wirksamkeitsmaß vergleichend benutzt wird, die unterschiedliche Empfindlichkeit verschiedener Tierstämme der gleichen Art und die große Abhängigkeit der Wirksamkeit von der zeitlichen Anordnung der Hormon-

* Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Förderung der Arbeit durch Gewährung von Mitteln aus dem „Roche-Fonds".

** D. 30.

zufuhr[1]. Eine völlig konsequente Anwendung dieser Erkenntnisse ist indessen auch heute noch keineswegs allgemein gebräuchlich, so daß Widersprüche in den Befunden verschiedener Untersucher duchaus nicht selten sind. Die häufigsten Schwierigkeiten entspringen offenkundig aus Unterschieden im zeitlichen Verlauf des Hormonangebotes an das reagierende Testorgan, die ihrerseits vorwiegend bedingt sind durch Unterschiede des Lösungsmittels und der zeitlichen Anordnung der Injektionen. Die Schaffung der internationalen Standardpräparate von Oestron und Oestradiolbenzoat und die Herausgabe von Richtlinien für die Ausführung eines Vergleichs mit anderen Präparaten, unter denen vor allem die Forderung gleichen Tiermaterials, gleicher Lösungsmittel und gleicher Injektionsanordnung wesentlich sind, wird nur rein praktischen Zwecken gerecht. Ihre Anwendung als Wirkungsmaß für Stoffe, deren chemischer Aufbau von den Standardpräparaten abweicht, begegnet vorläufig grundsätzlichen Bedenken, jedenfalls so lange in der heute üblichen Weise in verschiedenen Laboratorien mit einer jeweils mehr oder weniger verschiedenen schematischen Versuchsanordnung die Wirksamkeitsbestimmungen ausgeführt werden. Für chemisch verschiedene Substanzen müssen dann die unterschiedlichen physikalischen und chemischen Eigenschaften bei einer schematisch konstant gehaltenen Anordnung der Injektionen zu einem verschiedenen Resorptionsverlauf und auch verschiedener Elimination führen, wozu für einige Stoffe noch chemische Veränderungen an ihrem Molekül innerhalb des Organismus hinzukommen können. Die daraus sich ergebenden Zeitfaktoren der Hormoneinwirkung, also gerade solche Faktoren, welche für die erzielte Wirkung von maßgebender Bedeutung sind, müssen also ganz verschieden ausfallen. Veränderungen im Zufuhrmodus zweier verschiedener Substanzen müssen sich dann für beide ganz verschieden auswirken und demnach zu ganz verschiedenen Ergebnissen für das gegenseitige Verhältnis ihrer Wirkungsstärke führen. Ein besonders typisches Beispiel enthält eine Arbeit von Schoeller, Dohrn und Hohlweg[2]. Sie fanden im Allen-Doisy-Test an der Maus bei Injektion wässeriger Lösungen (6 Teildosen innerhalb 2 Tagen) das Oestradiol dreimal so wirksam wie das Oestron (internationales Standardpräparat), bei Injektion öliger Lösungen (3 Teildosen an einem Tag), dagegen betrug die Wirksamkeit des Oestradiols nur etwa $^{7}/_{10}$ des Oestrons.

Daß diese große Diskrepanz auf Unterschieden im zeitlichen Ablauf der Hormoneinwirkung beruht, dürfte nicht zweifelhaft sein. Die in der Literatur vorhandenen Angaben über die Relationen der Wirkungsstärken von Oestron zu Oestradiol, die an der gleichen Tierart (meistens Ratte)

---

[1] Behrens, B., W. Heubner, W. Koll, F. Külz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 121 (1937). Dort sind auch die wichtigsten Literaturhinweise gegeben. — [2] Schoeller, W., M. Dohrn, W. Hohlweg: Klin. Wschr. **1935**, S. 826.

festgestellt wurden, schwanken meistens zwischen 1 : 3 und 1 : 12^{2-6}. Diese immerhin beträchtlichen Unterschiede beruhen ohne Zweifel zum großen Teil ebenfalls auf Unterschieden in der Versuchstechnik der verschiedenen Untersucher, wobei das Hauptgewicht auf die zeitlichen Unterschiede der Hormonzufuhr entfallen dürfte.

Die Klärung der Frage, ob ein Weg gefunden werden kann, der mit konstanten Ergebnissen einen Wirksamkeitsvergleich chemisch verschiedener Stoffe an verschiedenen Tierstämmen gleicher Tierart gestattet, ist für wissenschaftliche und praktische Aufgaben von gleicher Bedeutung.

Eine Voraussetzung dafür ist es, „die Auswertungstechnik so zu gestalten, daß nach Möglichkeit die gesamte zugeführte Hormonmenge auch für die Reaktion ausgenützt wird“[1]. Dazu gehört die Berücksichtigung aller Zeitfaktoren, die für die Reaktion zwischen Hormon und Substrat wesentlich sind, d. h. zunächst der von Lösungsmitteln und Injektionsanordnung abhängige Verlauf des Hormonangebotes. Daneben ist aber die Möglichkeit ins Auge zu fassen, daß der zeitliche Verlauf der Reaktion des Testorganes der Wirkung des Hormons noch besondere Bedingungen stellt.

Der vorliegenden Arbeit fällt im Rahmen dieser Problemstellung die Aufgabe zu, an der Ratte die optimalen Wirkungsbedingungen für wässerige Lösungen von Oestron und Oestradiol zu ermitteln, ihre optimalen Wirkungsstärken untereinander zu vergleichen und ferner die zeitlichen Beziehungen zwischen Dauer der Hormonzufuhr und Reaktionsablauf am Vaginalepithel zu untersuchen.

II. Versuchsanordnung.

Die verwendeten Ratten entstammten alle der gleichen Zucht. Die Nahrung der Tiere bestand aus gemischtem Körnerfutter (Hühnerfutter) und Wasser mit gelegentlichen Zugaben von Rüben, alten Brotresten oder Hundekuchen. Das noch zugelassene Mindestgewicht der zur Zeit der Kastration noch ziemlich jungen Tiere betrug 120 g. Die angewendete Kastrationstechnik war die von Behrens und Heubner[1] beschriebene. 2 Wochen nach der Operation wurden zur Kontrolle des Kastrationserfolges 1 Woche lang Abstriche gemacht, und in der 4. oder 5. Woche nach der Kastration zunächst eine Vorprüfung auf die Reaktionsfähigkeit durch Injektion einer etwas höheren Hormondosis (2,4—4 γ eines wassergelösten Oestronpräparates verteilt über 2 oder 3 Tage) angeschlossen. 2 Wochen nach beendeter Vorprüfung wurden die Tiere erstmalig in den Versuch genommen. Zwischen je zwei an einer Tierserie vorgenommenen Versuchen lag eine Pause von 1 Woche.

Die verwendeten Präparate von Oestron und α-Oestradiol waren reinste kristallinische Substanzen. Als Ausgangsmaterial für die Darstellung unseres Oestradiolpräparates war zur Sicherheit ein Teil des von uns verwendeten Oestron-

[3] David, K., S. E. de Jongh u. E. Laqueur: Arch. internat. pharmacodyn. **51**, 137 (1935). — [4] Weyland, W., u. W. Grab: Medizin u. Chemie III, S. 173, Leverkusen 1936. — [5] Butenandt u. Goergens: Z. physiol. Chem. **248**, 129 (1937). — [6] Dirscherl: Z. physiol. Chem. **239**, 53 (1936). In diesen neueren Arbeiten sind die älteren Literaturangaben enthalten.

präparates benutzt worden[7]. Die Substanzen wurden in allen Versuchen in wässeriger Lösung verabfolgt, da der Resorptionsverlauf aus subcutan verabfolgter öliger Lösung zu unübersehbar ist und leicht kompliziert werden kann[8].

Die zur Herstellung der Stammlösungen benutzten Substanzmengen waren auf der Mikrowaage im mikroanalytischen Laboratorium des Leipziger physiologisch-chemischen Instituts abgewogen worden*. Die Herstellung der wässerigen Lösungen erfolgte nach vorheriger Lösung entweder in wenig Alkohol oder in einer kleinen genau gemessenen Menge n/10 NaOH, welches nach ausreichender Verdünnung mit Wasser durch äquivalente Mengen n/10 HCl wieder neutralisiert wurde. Die Konzentration der zur Injektion verwendeten Lösungen war durch Verdünnung mit 0,9%iger NaCl-Lösung immer so eingestellt, daß die pro Tag zu verabfolgende Dosis in 1 ccm enthalten war. Der öfter variierte Unterteilungsmodus der Gesamtdosis ist später bei den einzelnen Versuchen jeweils genau angegeben. Die Injektionszeiten waren bei täglich 2 Injektionen 10 und 18 Uhr, bei täglich 3 Injektionen 8, 14 und 20 Uhr, bei täglich 4 Injektionen 8, 13, 18, 23 Uhr. In den auf die Ermittlung der „mittleren Wirkungsdosen" gerichteten Reihenversuchen betrug der (abgerundete) Dosenabstand zwischen je zwei Tiergruppen 20%. Die für jede Dosis angesetzte Zahl von Tieren ist durchschnittlich 5, variiert aber öfter nach unten und oben.

Als „positive" Reaktion wurde nur der Volloestrus gewertet[1]. Zur möglichst sicheren Erfassung dieses Stadiums wurden an dem Tag, an welchem die Reaktion der Tiere eintrat, durchschnittlich 3—4 Abstriche gemacht. Dazu kamen noch einige Abstriche vorher oder nachher, da die Abstrichentnahmen dem wechselnden Reaktionsverlauf angepaßt werden mußten. Die „mittlere wirksame Dosis" wurde als arithmetisches Mittel nach dem Verfahren von Behrens und Kärber[1, 9, 10] berechnet.

III. Die Abhängigkeit der Wirkungsstärke von der zeitlichen Anordnung der Injektionen.

Den Einfluß der zeitlichen Verteilung der Hormoninjektionen haben in systematischen Versuchen bereits Behrens und Heubner[1] besonders an der Ratte (und in einigen Versuchen auch an der Maus) und Koll und Külz[1] ausführlich an der Maus mit wassergelösten Oestronpräparaten studiert. Sie fanden für wässerige Lösungen eine optimale Wirksamkeit, wenn die Hormonzufuhr an der Ratte über zwei Tage, an der Maus über drei Tage mit täglich drei gleich großen, über den Tag möglichst gleichmäßig verteilten Injektionen ausgedehnt wird.

An den Beginn dieser Arbeit wurden noch einmal systematische Versuche zur Ermittlung der optimalen Wirkungsbedingungen des Oestrons gestellt, wobei besonders die zwei- und dreitätige Dauer der Hormoninjektionen berücksichtigt wurde. Wir haben derartige Versuche trotz der bereits vorliegenden Resultate von Behrens und Heubner ausgeführt, um zu erfahren, ob an einem anderen Tiermaterial für Oestron das gleiche

* Wir danken auch an dieser Stelle Herrn Herler für seine bereitwillige Hilfe.

[7] Wir sind der Firma C. F. Boehringer u. Söhne, Mannheim-Waldhof für die Überlassung der Substanzen zu besonderem Dank verpflichtet. — [8] Deanesley, R., u. A. S. Parkes: J. of Physiol. **78**, 155 (1933). — [9] Kärber, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **162**, 480 (1931). — [10] Behrens, B., u. G. Kärber: Ebenda **177**, 379 (1935).

Ergebnis erhalten wird. Die Versuche wurden dann weiterhin auf das Oestradiol ausgedehnt, da nach den in der Einleitung angestellten Erwägungen die optimale Injektionsanordnung für diesen Stoff von der für das Oestron gefundenen abweichen konnte.

Die ersten Versuche mit Oestron wurden in der Anordnung, welche Koll und Külz[1] an der Maus benutzten, durchgeführt, d. h. eine Dosis mittlerer Wirksamkeit wurde einem größeren Tiermaterial über 2 oder 3 Tage mit drei Injektionen pro Tag verabfolgt. Diese Versuchsanordnung gab zugleich einen guten Einblick, ob die Empfindlichkeit in dem nach Gruppen geordneten Tiermaterial ungefähr gleichmäßig verteilt war.

Eine Übersicht über die Ergebnisse vermittelt Tabelle 1.

Tabelle 1.

Verwendetes Oestronpräparat: „Perlatan", kristallisiert, wassergelöst.

Versuch Nr.	Datum	Tierserie Nr.	Gesamtdosis in γ	Injektionsanordnung	Positive Tiere/ Gesamtzahl der Tiere	% positiv
V 2	26. 7. 37	I	1,6	2 Tage 2mal tgl.	19/41	46
V 3	9. 8. 37	I	1,6	3 „ 3mal „	2/41	5
V 6	26. 7. 37	II	1,6	2 „ 3mal „	21/45	47
V 7	9. 8. 37	II	1,6	3 „ 2mal „	3/42	7
V 8	7. 9. 37	II	2,0	3 „ 3mal „	8/38	21
V 9	14. 9. 37	II	2,0	2 „ 3mal „	18/37	43

Aus der Tabelle 1 geht klar hervor, daß auch an unserem Tiermaterial, welches eine deutlich geringere Hormonempfindlichkeit aufweist als das von Behrens und Heubner[1], in der zweitägigen Anordnung (weiterhin kurz als „2-Tage-Versuch" bezeichnet) bedeutend mehr Tiere mit Vollocstrus reagieren als bei der Hormonverteilung über 3 Tage (fortan „3-Tage-Versuch" genannt).

Da es für uns im Zusammenhang mit weiter unten dargelegten Überlegungen von Interesse war, zu erfahren, um wieviel die Hormondosen im 3-Tage-Versuch gesteigert werden müssen, um die gleiche Wirkung wie im 2-Tage-Versuch zu erzielen, haben wir die weiteren Versuche mit Oestron und die Versuche mit Oestradiol als Reihenversuche zur Feststellung der „mittleren Wirkungsdosis" durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 enthalten.

Aus der tabellarischen Übersicht geht hervor, daß nicht nur beim Oestron, sondern auch beim Oestradiol die Wirksamkeit im 1-Tage-Versuch und im 3-Tage-Versuch wesentlich geringer ist als im 2-Tage-Versuch (es soll hier kurz angemerkt werden, daß im Versuch Nr. 3 vom 19. Dezember 1937 an Serie II und III, die mit jeder Injektion verabreichten Einzeldosen nicht ganz gleich groß sind; vgl. S. 346).

Die erheblich stärkere Wirksamkeit des Oestrons und Oestradiols im 2-Tage-Versuch gegenüber dem 3-Tage-Versuch erscheint uns einigermaßen überraschend im Hinblick auf die Tatsache, daß die im 2-Tage-Versuch

Tabelle 2.

Versuch Nr.	Datum	Tierserie Nr.	Injektionsanordnung	Mittlere Wirkungsdosis in γ	Zahl der Tiere im Versuch	Präparat
6	20. 2. 38	III	1 Tag 4 mal tgl.	2,45	25	Oestron
1	23. 11. 37	III	2 Tage 3 mal „	1,58	34	„
3	19. 12. 37	III	3 „ 3 mal „	2,17	28	„
1	23. 11. 37	II	2 Tage 3 mal tgl.	1,11	31	Oestron
3	19. 12. 37	II	3 „ 3 mal „	1,76	30	„
IX	4. 2. 38	III	1 Tag 4 mal tgl.	0,27	26	Oestradiol
I	12. 10. 37	III	2 Tage 3 mal „	0,17	35	„
II	26. 10. 37	III	2 „ 3 mal „	0,20	35	„
III	8. 11. 37	III	3 „ 3 mal „	0,25	35	„
I	12. 10. 37	II	2 Tage 3 mal tgl.	0,16	34	Oestradiol
II	26. 10. 37	II	2 „ 3 mal „	0,16	33	„
III	8. 11. 37	II	3 „ 3 mal „	$<0{,}29$	32	„

durch das Hormon (in einer der „mittleren Wirkungsdosis" nahen Dosierung) ausgelöste Reaktion frühestens etwa 24 Stunden nach der letzten Injektion im Abstrich gerade in den ersten Stadien erkennbar wird und ihren Höhepunkt erst nach durchschnittlich 36 Stunden erreicht (vgl. S. 349). Selbst wenn man berücksichtigt, daß der Abstrich die Veränderungen des Vaginalepithels mit einer gewissen Verspätung widerspiegelt, so muß doch im 2-Tage-Versuch die „Latenzzeit" zwischen letzter Hormongabe und Reaktionsbeginn erheblich in den dritten Versuchstag hineinragen. Die Entwicklung des Oestrus im Abstrichbild aus den ersten prooestrischen Stadien bis zum Höhepunkt dauert nur etwa 12 Stunden, von der 24. bis zur 36. Stunde nach der letzten Injektion. Wären in der Zeit vor den ersten Reaktionsstadien im Abstrich bereits die den Volloestrus bezeichnenden Epithelformationen in den tieferen Schichten voll entwickelt, so müßte es ja zu dieser frühen Zeit möglich sein, durch wiederholtes Abstreichen das verhornte Plattenepithel freizulegen und ein „Schollenstadium" nachzuweisen, was aber nicht gelingt.

Setzt man voraus, daß der ganze Ablauf der Epithelumwandlung von der dauernden Anwesenheit einer gewissen Hormonkonzentration abhängt, was nach den bisher bekannten Tatsachen über den Zeitfaktor in der Hormonwirkung durchaus begründet erscheint, so müßte man erwarten, daß ein 3-Tage-Versuch, in welchem also die Hormonzufuhr sich bis nahe an den Reaktionsbeginn oder sogar bis in ihn hinein erstreckt, die optimalen Wirkungsbedingungen liefern würde. Wir haben deshalb den 3-Tage-Versuch in einer veränderten Form nochmals wiederholt. Koll und Külz[1] hatten nämlich auf Grund von Beobachtungen über die Wirkung protrahierter Hormoninjektionen an der Maus die Frage aufgeworfen, ob vielleicht das in Reaktion befindliche Epithel zur Fortsetzung seiner Umwandlung eines höheren Hormonangebotes bedarf, als das ruhende zur Auslösung der Reaktion. Diese Frage veranlaßte uns, die 3-Tage-Ver-

suche mit von Injektion zu Injektion und von Tag zu Tag „anschwellender" Hormonzufuhr durchzuführen.

Versuchsanordnungen: Reihenversuche mit 20% Dosenabstand von Tiergruppe zu Tiergruppe. Die jedem Tier zu verabfolgende Dosis war in 3 ccm enthalten. Diese 3 ccm wurden dann in folgender Weise auf die einzelnen Injektionen verteilt:

Versuch 2 (Oestron) „stark anschwellend".
1. Tag: 0,15, 0,15, 0,15 ccm.
2. Tag: 0,20, 0,25, 0,35 ccm.
3. Tag: 0,45, 0,55, 0,75 ccm.

Versuch 3 (Oestron) „mäßig anschwellend".
1. Tag: 0,25, 0,25, 0,25 ccm.
2. Tag: 0,25, 0,30, 0,35 ccm.
3. Tag: 0,40, 0,45, 0,50 ccm.

Versuch IV (Oestradiol) „mittelstark anschwellend".
1. Tag: — 0,15, 0,30 ccm.
2. Tag: 0,25, 0,30, 0,40 ccm.
3. Tag: 0,40, 0,55, 0,65 ccm.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in der Tabelle 3 den im 2-Tage-Versuch mit gleichmäßigen Einzeldosen erhaltenen gegenübergestellt.

Tabelle 3.

Versuch Nr.	Datum	Präparat	Tierserie Nr.	Mittlere Wirkungsdosis in γ	Tierzahl	Injektionsmodus
1	23. 11. 37	Oestron	II	1,11	31	2 Tage gleichmäßig
2	7. 12. 37	„	II	1,42	30	3 „ stark anschwellend
3	19. 12. 37	„	II	1,76	30	3 „ mäßig anschwellend
1	23. 11. 37	Oestron	III	1,58	34	2 „ gleichmäßig
2	7. 12. 37	„	III	1,89	32	3 „ stark anschwellend
3	19. 12. 37	„	III	2,17	28	3 „ mäßig anschwellend
II	26. 10. 37	Oestradiol	II	0,16	33	2 „ gleichmäßig
IV	5. 1. 38	„	II	0,15	30	3 „ mittelstark anschwellend
II	26. 10. 37	Oestradiol	III	0,20	35	2 „ gleichmäßig
IV	5. 1. 38	„	III	0,22	27	3 „ mittelstark anschwellend

Es geht daraus hervor, daß anschwellende Hormonzufuhr im 3-Tage-Versuch bestenfalls eine starke Annäherung an die Wirksamkeit im 2-Tage-Versuch erreicht, daß diese aber nicht übertroffen wird.

IV. Das Verhältnis der Wirkungsstärken von Oestron und Oestradiol.

Nach den Ergebnissen der im vorigen Abschnitt wiedergegebenen Versuche liegen die bisher optimal befundenen Wirkungsbedingungen nicht nur für Oestron, sondern auch für Oestradiol in der Anordnung des 2-Tage-Versuchs mit gleichmäßigen Einzeldosen vor. Die mit dieser Versuchs-

anordnung erhaltenen „mittleren Wirkungsdosen" müssen also für den Wirksamkeitsvergleich der beiden Stoffe in wässeriger Lösung zugrunde gelegt werden (Tabelle 4).

Tabelle 4.
Injektionsmodus: 2 Tage 3mal täglich.

Versuch Nr.	Datum	Präparat	Tierserie	Mittlere Wirkungsdosis in γ		Tierzahl	Verhältnis der mittleren Wirkungsdosen von Oestron zu Oestradiol
I	12. 10. 37	Oestradiol	II	0,16		34	6,9 : 1
II	26. 10. 37	„	II	0,16		33	
I	23. 11. 37	Oestron	II	1,11		31	
I	12. 10. 37	Oestradiol	III	0,17	0,185	35	8,5 : 1
II	26. 10. 37	„	III	0,20		35	
I	23. 11. 37	Oestron	III	1,58		34	
VII	14. 12. 37	Oestradiol	IV	0,16	0,165	35	9,7 : 1
VIII	28. 12. 37	„	IV	0,17		34	
4	12. 1. 38	Oestron	IV	1,54	1,61	32	
5	25. 1. 38	„	IV	1,70		30	

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse müssen wir vorläufig feststellen., daß auch bei optimalen Wirkungsbedingungen die gefundenen Zahlenverhältnisse gleichwirksamer Dosen von Oestron und Oestradiol nicht unerhebliche Schwankungen aufweisen können. Das erscheint um so bemerkenswerter, als die drei verschiedenen Tierserien aus gleicher Zucht praktisch die gleiche Empfindlichkeit gegenüber Oestradiol aufweisen (gleiche mittlere Wirkungsdosen). Gegenüber Oestron ist die Serie II empfindlicher als die anderen, bei gleicher Empfindlichkeit für Oestradiol.

Wirksamkeitsvergleiche von Oestron und Oestradiol sind zwar häufig ausgeführt worden, mit sehr wechselnden Ergebnissen, wie in der Einleitung schon bemerkt wurde. Unter den in der Literatur angegebenen Versuchen befinden sich aber nur ganz vereinzelte, in denen die Substanzen in wässeriger Lösung appliziert wurden. Vergleichbare Injektionsbedingungen wurden anscheinend nur von Schoeller, Dohrn und Hohlweg[2] angewendet. Sie fanden, daß die „Wirkungsdosen" von Oestron und Oestradiol im Verhältnis 6,6 : 1 stehen, ein Ergebnis, das mit der niedrigsten von uns gefundenen Relation übereinstimmt. Es muß aber darauf hingewiesen werden, daß die von den genannten Autoren angegebenen „Wirkungsdosen" um etwa 30% kleiner sind als unsere, so daß also entweder ihr Tiermaterial empfindlicher war oder ihre „Wirkungsdosis" nach anderen Kriterien definiert war als unsere.

V. Die Beziehungen zwischen Wirkungsablauf und zeitlicher Anordnung der Injektionen.

Auf der Suche nach einer Erklärung für die im 3-Tage-Versuch gegenüber dem 2-Tage-Versuch eintretende Wirksamkeitsverminderung des Oestrons und Oestradiols liegt es auf der Hand, zunächst die aus Injektions-

anordnung, Hormonresorption und -elimination sich ergebende Hormonkonzentration und die Dauer ihrer Überschwelligkeit in Betracht zu ziehen.

Daß die Eliminationsgeschwindigkeit groß ist, ergibt sich aus der außerordentlichen Differenz zwischen den hohen Dosen, die bei einmaliger Injektion wässeriger Lösungen zur Auslösung des Volloestrus erforderlich sind und den kleinen Dosen, welche bei „verzettelter" Injektionsweise bereits zum Volloestrus führen[11].

Über die erforderliche Einwirkungsdauer überschwelliger Hormonkonzentrationen haben wir noch keine sicheren Vorstellungen. Wir sind jedoch geneigt, auf Grund der Zusammenhänge zwischen den cyclischen Vorgängen im Ovarium und der Reaktion des übrigen Genitalsystems anzunehmen, daß der Oestrus sich unter dem Einfluß einer bis zum Volloestrus anhaltenden Follikelhormonabsonderung des Ovariums entwickelt. eine Annahme, die auch gestützt ist durch die Tatsache, daß eine sehr hohe Dosis Follikelhormon, welche aus einem Depot sehr langsam zur Resorption kommt, zu einem Oestrus führt, welcher Wochen oder Monate, sogar über 1 Jahr dauern kann[12, 13].

Nun ist es zwar ohne weiteres klar, daß dieselbe Dosis eines rasch eliminierbaren Stoffes innerhalb von 2 Tagen injiziert zu einer höheren durchschnittlichen Konzentration führt als bei Verteilung über 3 Tage, so daß also zur Erzielung einer Konzentration gleicher Wirksamkeit im 3-Tage-Versuch höhere Dosen injiziert werden müssen als im 2-Tage-Versuch. Die Differenz zwischen den beiden gleich wirksamen Dosen könnte dann annähernd als der durch die Elimination bedingte Verlust an wirksamer Substanz, der durch die Verlängerung der Eliminationszeit um 24 Stunden verursacht ist, aufgefaßt werden. Wir haben für einige unserer Versuche diese scheinbare Eliminationsgröße (vgl. dazu S. 349) aus der Differenz der im 2- und 3-Tage-Versuch gefundenen mittleren Wirkungsdosen berechnet und haben dabei feststellen müssen, daß diese Differenzen in ihrer Größenordnung den „mittleren wirksamen Tagesdosen" entsprechen. In diesem Zusammenhang und bei den anschließenden Überlegungen wurden wir erst besonders darauf aufmerksam, daß die „mittleren wirksamen Tagesdosen" der 2- und 3-Tage-Versuche überraschend nahe beieinander liegen, möglicherweise noch innerhalb der Streuungsbreite der Versuche übereinstimmen, wie aus Tabelle 5 hervorgeht.

Genau dasselbe fanden wir dann auch an den an Ratten durchgeführten 2- und 3-Tage-Versuchen (mit 2 und 3 Injektionen am Tag) von Behrens und Heubner[14]. Diese nahe Übereinstimmung bedeutet aber, daß zur Erzielung eines bestimmten Wirkungsgrades, also z. B. Volloestrus an 50% der Tiere, die am 3. Injektionstag eines 3-Tage-Versuchs verabfolgte Dosis,

---

[11] Weitere Argumente für die hohe Eliminationsgeschwindigkeit bei J. Schmidt-Thomé: Ergebnisse d. Physiol. **39** (1937). — [12] N. Brock u. Druckrey, H.: Klin. Wschr. **17**, 23 (1938). — [13] R. Deanesly u. A. S. Parkes: Chemistry and Industry **56**, 447 (1937). — [14] Siehe Lit.-Zitat 1, dort Tabelle 7 auf S. 137.

Tabelle 5.

Präparat	Versuch Nr.	Datum	Tier-serie	Injektion 3mal tägl. über Tage	Mittlere Wirkungs-dosis in γ	Differenz der mittleren Wirkungs-dosen in γ	Mittlere Tages-wirkungs-dosis in γ
Oestron	1	23. 11. 37	II	2	1,11	0,65	0,56
„	3	19. 12. 37	II	3	1,76		0,59
Oestron	1	23. 11. 37	III	2	1,58	0,59	0,79
„	3	19. 12. 37	III	3	2,17		0,72
Oestradiol	I	12. 10. 37	III	2	0,17		0,092
„	II	26. 10. 37	III	2	0,20		
				Mittel:	0,185	0,065	
„	III	8. 11. 37	III	3	0,25		0,083

d. h. eine „mittlere wirksame Tagesdosis", praktisch für den beobachteten Reaktions„grad" (= prozentuale Häufigkeit des Volloestrus) nicht mehr ins Gewicht fällt, da die an den beiden vorangegangenen Tagen verabfolgten „mittleren Tageswirkungsdosen" bereits zum gleichen Resultat führen. Aus diesem Grunde ist es auch nicht angängig, die Differenz der „mittleren Wirkungsdosen" des 2- und 3-Tage-Versuchs zur Bestimmung der Eliminationsgröße heranzuziehen.

In einer anderen Hinsicht erscheint uns die Tatsache der Wirkungslosigkeit der am 3. Tage verabfolgten „mittleren Tageswirkungsdosis" auch noch bemerkenswert: Am Beginn des 3. Injektionstages sind im Abstrich noch keinerlei Anzeichen einer Reaktion vorhanden, die allerersten Stadien werden durchschnittlich erst 12 Stunden später beobachtet. Das Vaginalepithel hat also am Beginn des 3. Tages seine morphologische Reaktion auf das bis dahin verabfolgte Hormon ganz sicher noch nicht abgeschlossen und es dürfte also erwartet werden, daß es der Wirkung weiterer Hormongaben noch zugänglich ist. Wenn also wirklich der Oestrus sich unter dem Einfluß einer von der vorausgegangenen zweitägigen Hormonzufuhr noch vorhanden gebliebenen überschwelligen Hormonkonzentration entwickelt, so müßte diese, nach dem Termin des Volloestrus zu urteilen, mindestens noch etwa 24 Stunden nach Ende der Injektionen bestehen, und es müßte dann die Verabfolgung einer 3. „Tageswirkungsdosis" zu einer nochmaligen Steigerung der Hormonkonzentration führen, die damit an einer weiteren Anzahl von Tieren überschwellig würde. Der Versuch zeigt, daß das im Bereich der mittleren Wirkungsdosen (und wahrscheinlich auch bei anderen Dosengrößen) nicht eintritt.

Wir haben daraufhin nach anderen Wirkungsäußerungen der dritten „Tageswirkungsdosis", die noch in der „Latenzzeit" des 2-Tage-Versuchs appliziert wird, gesucht und z. B. ein beschleunigtes Auftreten des Oestrus bei der „mittleren Wirkungsdosis" des 3-Tage-Versuchs im Vergleich zu der des 2-Tage-Versuchs für möglich gehalten.

Wir haben unter diesem Gesichtspunkte vergleichbares Material aus unseren Versuchsprotokollen zusammengestellt und haben feststellen müssen, daß gerade das Gegenteil unserer Erwartung zutrifft: Bezogen auf den Zeitpunkt der letzten Injektion des **2.** Versuchstages tritt für die gleichwirksamen Dosen (mittlere Wirkungsdosis) in den 3-Tage-Versuchen der Volloestrus später auf als in den 2-Tage-Versuchen, so daß also die 3. „Tageswirkungsdosis" verzögernd gewirkt hat. (Tabelle 6.)

Tabelle 6.

Präparat	Versuch Nr.	Datum 1937	Tierserie	Injektion 3 mal tägl. über Tage	Mittlere Wirkungsdosis in γ	Die der mittleren Wirkungsdosis nächste injizierte Gesamtdosis in γ	Mittlere Tageswirkungsdosis in γ	Pro Tag injizierte Dosis in γ	Eintritt des Oestr. nach der 6. Injektion (nach Std.)	Tierzahl
Oestron	1	23. 11.	II	2	1,11	1,28	0,56	0,64	**30—36**	5
„	3	19. 12.	II	3	1,76	1,92	0,59	0,64	**48**—60	4
„	1	23. 11.	III	2	1,58	1,60	0,79	0,80	**36**	4
„	3	19. 12.	III	3	2,17	2,30	0,72	0,77	**60**	3
Oestradiol	II	12. 10.	III	2	0,17	0,17	0,085	0,085	**36**	4
„	II	26. 10.	III	2	0,20	0,20	0,10	0,10	**36**	3
„	III	8. 11.	III	3	0,25	0,29	0,083	0,097	**48—60**	5

Wenn auch die für den Eintritt des Volloestrus gefundenen Zeitdifferenzen so groß sind, daß sie größer sind als die Streuung, die das Tiermaterial in bezug auf den Eintrittstermin des Volloestrus für diese Injektionsanordnung aufweist, so hielten wir es doch für erforderlich, einen so unerwarteten Befund an einem etwas größeren Tiermaterial nachzuprüfen. Wir haben deshalb in einigen Versuchsreihen (mit gleichmäßiger Größe der pro Injektion verabfolgten Hormondosis) die Frage geprüft: Wann wird bei einer bestimmten Gesamtdosis im 2-Tage-Versuch der Volloestrus erreicht und wann tritt bei dem 1,5fachen dieser Dosis im 3-Tage-Versuch der Volloestrus ein?

Bei dieser Versuchsanordnung haben also wieder, wie in den Versuchen der Tabelle 6, die Tiere im 3-Tage-Versuch am Ende des 2. Injektionstages genau dieselbe Hormonmenge erhalten wie im 2-Tage-Versuch.

Die Größe der Dosen liegt oberhalb der durchschnittlich gefundenen „mittleren Wirkungsdosen", erreicht jedoch nicht die Dosen, welche an einem größeren Tiermaterial alle Tiere zum Volloestrus bringen. Die einzelnen im 2- und 3-Tage-Versuch miteinander verglichenen Dosierungsstufen sind als einigermaßen gleichwertig zu erachten. Die Übersicht der Ergebnisse enthält Tabelle 7.

Bezogen auf den Zeitpunkt, zu welchem im 2- und 3-Tage-Versuch die Tiere die gleiche Hormondosis erhalten haben, d. i. nach der 6. Injektion am Ende des 2. Tages, tritt auch in diesen Versuchen der Oestrus im 3-Tage-

Tabelle 7.

Präparat	Versuch Nr.	Tierserie	Injektionsmodus*	Gesamtdosis in γ	Positive Tiere /Gesamtzahl der Tiere	Davon positiv nach der 6. Injektion nach Stunden				
						24–25	35–36	38–39	42/44–49	
Oestron (Versuchsdatum 25. 2. 1938)	A 1	IV	2 mal 3	2,00	5/5	2	3	—	—	
	A 1	IV	2 mal 3	2,20	5/5	3	1	—	—	
	A 1	IV	2 mal 3	2,40	3/5	2	1	—	—	
	B 1	IV	3 mal 3	3,00	4/5	—	1	2	1	—
	B 1	IV	3 mal 3	3,30	4/4	—	2	1	1	—
	B 1	IV	3 mal 3	3,60	5/5	—	2	3		—
	A 1	V	2 mal 3	2,00	4/8	1	3	—	—	—
	A 1	V	2 mal 3	2,20	7/8	1	5	—	—	—
	A 1	V	2 mal 3	2,40	7/8	3	4	—	—	—
	B 1	V	3 mal 3	3,00	4/5	—	2	—	—	2
	B 1	V	3 mal 3	3,30	4/5	—	1	—	3	—
	B 1	V	3 mal 3	3,60	4/4	—	1	—	3	—
Oestradiol (Versuchsdatum 24. 3. 1938)	A	IV	2 mal 3	0,20	4/4	3	1	—	—	—
	A	IV	2 mal 3	0,22	5/5	5	—	—	—	—
	A	IV	2 mal 3	0,24	4/5	—	4	—	—	—
	B	IV	3 mal 3	0,30	4/4	—	1	1	—	2
	B	IV	3 mal 3	0,33	5/5	1	1	2	1	
	B	IV	3 mal 3	0,36	5/5	—	4	1	—	—
	A	V	2 mal 3	0,20	4/5	2	1	1	—	—
	A	V	2 mal 3	0,22	4/5	3	1	—	—	—
	A	V	2 mal 3	0,24	3/5	2	1	—	—	—
	B	V	3 mal 3	0,30	4/6	—	1	2	1	—
	B	V	3 mal 3	0,33	6/6	—	—	3	3	—
	B	V	3 mal 3	0,36	6/6	—	5	—	1	—

* 2 mal 3 = 2 Tage 3 mal täglich; 3 mal 3 = 3 Tage 3 mal täglich.

Versuch später ein als im 2-Tage-Versuch. Es wird also durch die am 3. Tage verabfolgte Hormondosis der Eintritt des Oestrus verzögert.

Ein prinzipiell gleiches Ergebnis zeigen auch andere Zusammenstellungen von Ausschnitten aus den früheren Reihenversuchen, in denen ganz analoge Dosierungsverhältnisse zwischen 2- und 3-Tage-Versuch bestehen. Auf ihre Wiedergabe soll hier verzichtet werden, da sie unverhältnismäßig viel Raum beanspruchen würden und die bisher angeführten Resultate sich auf eine hinreichende Tierzahl stützen, um als gesichert zu gelten.

Im Gegensatz zu der fehlenden Wirkung der 3. Tages-Dosis auf die prozentuale Häufigkeit der Erreichung des Oestrus und der verzögernden Wirkung auf den Eintrittstermin des Oestrus, ist nach unseren Versuchsprotokollen doch auch eine positive Wirkung der am 3. Tage injizierten

Hormondosis schon ziemlich sicher erkennbar, nämlich eine Verlängerung der Dauer des Oestrus an den Tieren, welche überhaupt dieses Reaktionsstadium erreichen. Aus äußeren Gründen konnte bei einem größeren Teil der in Betracht kommenden Versuche nicht die ganze Dauer des Oestrus durch Abstrichentnahme verfolgt werden. Wir haben aber annähernd die durchschnittliche Dauer des Oestrus in den Versuchen A und B der Tabelle 7 (Oestradiol) berechnen können. Es ergibt sich für den 2-Tage-Versuch eine Durchschnittsdauer von etwa 12 Stunden, für den 3-Tage-Versuch eine solche von mindestens 20—21 Stunden, wahrscheinlich aber erheblich mehr. Wir fassen die wesentlichen Ergebnisse dieses Abschnitts nochmals kurz zusammen:

Die „mittlere Wirkungsdosis" liegt im 3-Tage-Versuch etwa gerade um den Betrag einer „mittleren Tages-Wirkungsdosis" höher als im 2-Tage-Versuch. Wenn also in 2 Tagen die „mittlere Gesamtwirkungsdosis" des 2-Tage-Versuchs injiziert wird, so vermehrt das Hinzufügen einer weiteren „mittleren Tageswirkungsdosis" am 3. Tage nicht mehr die Zahl positiv reagierender Tiere, durch sie wird aber der Eintritt des Oestrus verzögert und die durchschnittliche Dauer des Oestrus verlängert.

VI. Diskussion der Ergebnisse.

Diese Befunde sind schwer zu vereinbaren mit den Anschauungen, die man sich bisher von den Bedingungen der Follikelhormonwirkung bilden mußte, nämlich, daß der erzeugte Reaktionsgrad, d. h. in diesem Zusammenhang: Entwicklung bis zum Volloestrus oder Abbruch der Entwicklung in einem prooestrischen Stadium, davon abhängt, ob die einwirkende Hormonkonzentration bis zur Erreichung des Volloestrus „überschwellig" bleibt oder nicht. Unsere an den Vaginalabstrichen erhobenen Befunde, die zur Sicherung ihrer Interpretation in weiteren Versuchsreihen noch durch die Untersuchung histologischer Schnittpräparate ergänzt werden sollen, führen uns vielmehr zu folgender Auffassung:

Durch die während der ersten 2 Tage einwirkende Hormonkonzentration entscheidet es sich, ob der Volloestrus erreicht wird oder nicht, und zwar zu einem Zeitpunkt, in welchem im Abstrich noch keinerlei Anzeichen für einen bevorstehenden Oestrus vorhanden sind und (höchstwahrscheinlich) in den tieferen Schichten des Vaginalepithels die Reaktion auch noch keineswegs ihren Höhepunkt überschritten hat und sich etwa schon in einem metoestrischen Stadium befindet. Die Tiere, welche während dieser kritischen Zeit unterschwellige Konzentrationen erhalten haben, reagieren zwar, aber es bricht die Umwandlung des Epithels vor Erreichung des Volloestrus ab, auch wenn ihnen während des sichtbaren Anfangs der Reaktion noch weitere Hormongaben verabreicht werden. Es wäre also für die Reaktion zwischen Follikelhormonen und Vaginalepithel die Existenz eines in dem Gewebe der Tierart liegenden Zeitfaktors nachgewiesen und zunächst die Größe dieses Faktors nach oben festgelegt.

Die Existenz eines derartigen Zeitfaktors erschien uns schon wahrscheinlich im Hinblick auf die verschiedenen „Reaktionsgeschwindigkeiten", die sich in der verschiedenen Entwicklungsdauer der zyklischen Veränderungen im Genitalsystem verschiedener Tierarten äußern. Die optimalen Wirkungsbedingungen der Follikelhormone an der Ratte, nämlich der 2-Tage-Versuch, wären demnach in den Eigenschaften des biologischen Substrates und nicht allein in den Zufuhr- und Eliminationsgrößen des Hormons bedingt.

Die nach unseren bisherigen Beobachtungen ebenfalls als ziemlich gesichert anzusehende Verlängerung der Oestrusdauer im 3-Tage-Versuch gegenüber dem 2-Tage-Versuch zeigt dann, daß an den Tieren, welche überhaupt zum Oestrus gelangen, auch die Dosis des 3. Tages wieder eine „Follikelhormonwirkung" entfaltet, so daß kein Widerspruch mehr besteht zu der Tatsache, daß man durch eine große Hormondosis, welche langsam resorbiert wird, einen sehr lange anhaltenden Oestrus erzeugen kann. Ferner ergeben sich aber noch interessante Aufschlüsse für die bisher noch nicht hinreichend erklärte Tatsache (die man als „besonderen Wirkungstypus" zu bezeichnen pflegt), daß die Follikelhormonester im Allen-Doisy-Test an Maus und Ratte in bezug auf die Zahl „positiver" Tiere, die eine bestimmte Dosis erzeugt, gar nicht so sehr viel wirksamer sind als die unveresterten Hormone, wie man doch nach der sehr viel längeren Oestrusdauer, die sie erzeugen, erwarten müßte, wenn man die Reaktion zwischen Hormon und Substrat nur unter dem Gesichtspunkt der Dauer der Hormoneinwirkung betrachtet.

Die Überlegungen von Deanesly und Parkes[15] über die Substitutionstherapie mit Hormonen, welche „chronische Effekte" im normalen Körper erzeugen, sind auf das Follikelhormon nur beschränkt anwendbar, da nur ein Teil seiner Wirkungen, z. B. die Ausbildung und Erhaltung sekundärer Geschlechtsmerkmale, als chronisch zu betrachten ist. Demgegenüber handelt es sich bei den für die erste Phase des Zyklus des Genitales charakteristischen Reaktionen um relativ akute Wirkungen des Follikelhormons, deren Auslösung und deren möglichst physiologischer Ablauf nach unseren Ergebnissen am Vaginalepithel der Ratte an bestimmte zeitliche Bedingungen des Angebotes der künstlich zugeführten Hormone gebunden ist. Für eine möglichst zweckmäßige therapeutische Anwendung von Follikelhormonzubereitungen und -derivaten bliebe zu untersuchen, ob und wie weit analoge Verhältnisse am Menschen vorliegen.

Für das pharmakologische Problem der Auswertung von Follikelhormonpräparaten im Allen-Doisy-Test an der Ratte führen unsere Ergebnisse ebenfalls zu einigen Folgerungen, die jedoch erst formuliert werden sollen, wenn die histologischen Untersuchungen von Schnittpräparaten und weitere Versuche mit öligen Lösungen des Oestrons und Oestradiols vorliegen.

---

[15] R. Deanesly u. A. S. Parkes: Proc. Roy. Soc. London (B) **124**, 279 (1938).

Zusammenfassung.

Die Widersprüche in den Angaben über die Wirkungsstärke chemisch verschiedener Stoffe mit Follikelhormonwirkung können darauf beruhen, daß bei einer schematischen Versuchsanordnung der zeitliche Verlauf des Hormonangebotes sehr verschieden ist. Ferner ist auch die Möglichkeit zu berücksichtigen, daß eine für die Tierart charakteristische Geschwindigkeit der Gewebsreaktion die Wirkungsmöglichkeit zugeführten Hormons zeitlich begrenzt.

Unter diesen Gesichtspunkten wurden im Allen-Doisy-Test an der Ratte für Oestron und Oestradiol in wässeriger Lösung die optimalen Wirkungsbedingungen ermittelt (Ergebnis für beide Stoffe: Injektion über 2 Tage mit je drei gleich großen Teildosen täglich) und in dieser Anordnung die optimalen mittleren Wirkungsdosen im Reihenversuch bestimmt.

Die an drei verschiedenen Tierserien gefundenen mittleren Wirkungsdosen von Oestron und Oestradiol zeigen die Verhältnisse 6,9 : 1; 8,5 : 1; 9,7 : 1.

Bei Ausdehnung der Hormonzufuhr auf 3 Tage steigt die „mittlere wirksame Dosis" im Vergleich zu zweitägiger Zufuhr gerade annähernd um den Betrag einer „mittleren-Tages-Wirkungsdosis", d. h. die Zahl positiver Tiere, welche durch zwei „mittlere Tageswirkungsdosen", an zwei aufeinanderfolgenden Tagen injiziert, erzeugt werden, steigt durch die Injektion einer weiteren mittleren Tageswirkungsdosis am 3. Tage nicht mehr an. Diese 3. Tagesdosis wirkt jedoch eindeutig verzögernd auf den Eintritt des Oestrus, während sie seine Dauer verlängert. Unter dem Vorbehalt, daß diese Befunde noch einer Ergänzung durch histologische Untersuchungen bedürfen, wird aus den Untersuchungsergebnissen die Folgerung gezogen, daß am Vaginalepithel der Ratte nur die innerhalb von etwa 48 Stunden einwirkenden Hormondosen für Eintritt oder Ausbleiben des Volloestrus entscheidend sind, obgleich nach Ablauf dieser Zeit noch keine nennenswerten morphologischen Veränderungen im Vaginalabstrich erkennbar sind.

Aus dem Pharmakologischen Institut Berlin.

Zur Frage der Dosenverteilung bei der Auswertung des Oestrons.

Von

Wolfgang Heubner und Jutta Brockmeier.

(Eingegangen am 20. Oktober 1938.)

Zu dem in vorstehender Arbeit von Koll und Nocken behandelten Thema war bereits in unserer früheren gemeinsamen Veröffentlichung[1] ein Beitrag aus dem Berliner Institut gegeben worden: Bei Verteilung der Gesamtdosis (in 4, 6 oder 9 Einzeldosen) über 2 oder 3 Tage hatte sich in einer Rattenserie der Unterschied von 6,06 zu 8,53, in einer zweiten der Unterschied von 5,69 zu 8,29 ergeben, also das Verhältnis 1,41 und 1,46 für die Dreitageperiode gegen die Zweitageperiode. Dies stimmt, wie Koll und Nocken erwähnen, sehr gut zu ihren Befunden und zu ihrer Deutung.

Inzwischen haben wir an neuen Serien von Ratten weitere Ergebnisse mit wässeriger Progynonlösung gewonnen, die wir als Standard bei Auswertungen gebrauchten. Unsere Technik und Berechnung war dabei stets die gleiche, wie sie früher[1] beschrieben wurde. Die verwandte Lösung war in drei Versuchen das gleiche Muster, das wir schon in unserer früheren Arbeit gebraucht hatten, nämlich eine wässerige Lösung reinen Oestrons (internationales Standardpräparat) ohne jeden Zusatz (Hausstandard „Fw II")[2]. In zwei weiteren Versuchen benutzten wir die gebräuchliche wässerige Progynonlösung zu 1 mg%.

Die Ratten entstammten einer Serie von insgesamt (anfangs) 138 Tieren, die zwischen dem 2. und 14. Mai 1937 kastriert waren. Zeitpunkt, Art und Ergebnis der Versuche finden sich in Tabelle 1 verzeichnet.

Tabelle 1.

Rattenserie	Lösung (wässerig)	Versuchsbeginn	Dauer der Injektionsperiode Tage	Zahl der Einzeldosen	Mittlere wirksame Gesamtdosis γ	Mittel
2	Int. Standard „Fw II."	7. XII. 1937	2	6	0,79	0,80
2		15. II. 1938	2	6	0,81	
2	Progynon	15. IX. 1937	3	3	1,23	1,21
2	„	18. I. 1938	3	3	1,26	
2	Int. Standard „Fw II."	1∞ I. 1938	3	3	1,14	

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 121, 137 (1937). — [2] Ebenda, S. 141.

Das Verhältnis der Mittelzahlen dieser Versuche beträgt demnach 1,51 in ausgezeichneter Übereinstimmung mit den Befunden von Koll und Nocken.

Etwas anders stellen sich die zahlreicheren Versuche dar, die wir mit öliger Lösung vornahmen und die wir in Tabelle 2 wiedergeben; dabei wurde stets dieselbe Lösung benutzt, nämlich unser „öliger Hausstandard", hergestellt von der Firma Schering[2]. Außer der Serie 2 wurden in diesem Versuch auch Tiere aus einer früheren (1) und einer späteren Serie (3) benutzt; diese Tiere waren im Juli und September 1936, sowie im Mai und Juni 1938 kastriert worden.

Tabelle 2. Ölige Lösung.

Rattenserie	Versuchsbeginn	Dauer der Injektionsperiode Tage	Zahl der Einzeldosen	Mittlere wirksame Gesamtdosis γ	Mittel
1	21. VI. 1937	1	1	1,59	
2	26. VI. 1937	1	1	1,83	
2	19. VII. 1937	1	1	1,55	1,50
2	27. VII. 1937	1	1	1,53	
1	21. IX. 1937	1	1	1,50	
2	7. XII. 1937	2	6	1,21	
2	4. I. 1938	2	4	1,17	1,17
2	29. III. 1938	2	6	1,13	
1	30. VII. 1937	3	3	1,04	
2	7. IX. 1937	3	3	1,05	
2	14. IX. 1937	3	3	0,90	
2	4. I. 1938	3	3	1,15	
2	2. V. 1938	3	3	0,97	0,99
3	27. VI. 1938	3	3	0,76	
3	25. VII. 1938	3	3	0,73	
3	31. VIII. 1938	3	3	1,18	
3	26. IX. 1938	3	3	1,13	

Es bestätigte sich also, wofür schon manches sprach, daß auch bei öligen Dosen die einmalige Injektion nicht das Optimum der Wirkung herbeiführt. Dagegen wurde ein Unterschied bezüglich der wirksamen Dosis hier nicht gefunden, wenn die Verteilung der Dosis auf 2 oder 3 Tage erfolgte. (Will man die erhaltenen Zahlen überhaupt als biologisch verschieden ansehen, würde eher die Verteilung auf 3 Tage günstiger erscheinen als eine kürzere Zeit.) Dies ist gegenüber den — wie uns scheint — recht gut gesicherten Befunden mit wässeriger Lösung durchaus überraschend und zunächst nicht verständlich.

Bei einem Deutungsversuch wird man davon auszugehen haben, daß die Dosen bei der öligen Lösung sämtlich höher liegen als bei der optimalen, auf 2 Tage verteilten Dosierung der wässerigen Lösung. Es muß also ein Teil des wirksamen Stoffes ungenutzt verlorengehen; man könnte

vermuten, daß der Übertritt ins wässerige Milieu im Verhältnis zur Ausscheidung ein langsames Tempo hat, so daß ceteris paribus eine geringere Konzentration im strömenden Blute erzielt wird. Wenn man dies annimmt, ist aber schwer verständlich, daß bei der Verteilung der Dosen auf 3 Tage die Gesamtdosis nicht wächst — wenigstens wenn man sich die von Koll und Nocken aus den Ergebnissen mit wässeriger Lösung abgeleitete Auffassung zu eigen macht, nach der nur die im Laufe von zwei Tagen einwirkende Oestronmenge entscheidend für den Erfolg ist: denn bei einer Gesamtdosis von 1 γ in Öl werden ja in den ersten 2 Tagen nur 0,7 γ in den Organismus gebracht, während 1,2 γ gebraucht werden, wenn man die Injektion auf 2 Tage zusammendrängt. Es scheint uns also hier noch ein ungelöstes Problem vorzuliegen.

Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der Universität zu Innsbruck.

Der Peroxydgehalt des Acetaldehydes und die Inaktivierung des Adrenalins.

Von

Theodor Wense.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. Oktober 1938.)

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Lissabon haben Toscano Rico und Malafaya Baptista[1] vor einiger Zeit mitgeteilt, daß Acetaldehyd Adrenalin zu inaktivieren vermag. Eine Wiederholung dieser Versuche ließ uns[2] die Feststellungen der Genannten in einer Veröffentlichung in diesem Archiv bestätigen, doch mußten wir erwähnen, daß wir nicht imstande waren, die von den portugiesischen Forschern angegebenen kurzen Zeiten der Adrenalinzerstörung zu erreichen. Wir hatten weiterhin gefunden, daß es sich bei dieser Inaktivierung um die Oxydation des Adrenalins handelt, die durch den Aldehyd beschleunigt wird. Dies ergab sich aus der Rötung acetaldehydhaltiger Adrenalinproben, sowie aus der Tatsache, daß sich der Aldehyd bei Entfernung und Fernhaltung von Sauerstoff aus den Proben als unwirksam erwies, während bei Sauerstoffdurchspülung acetaldehydhaltige Adrenalinlösungen viel rascher inaktiviert wurden als aldehydfreie Proben. Wir vermuteten, daß die oxydationskatalytische Wirksamkeit des sonst stark reduzierenden Acetaldehyds auf das Auftreten eines intermediären Acetperoxyds zurückzuführen sei, das die Autooxydation des Aldehyds bewirkt und möglicherweise auch andere Stoffe zu oxydieren vermag. Das tatsächliche Vorhandensein eines peroxydartigen Körpers in Acetaldehydlösungen bewies uns dann später die sog. Luminolprobe, wie wir[3] an anderer Stelle bereits erwähnt haben. Diese kennzeichnende Probe, die wohl zuerst Albrecht[4] beschrieben hat, besteht im Auftreten einer blaugrünen Lumineszenz in peroxydhaltigen Lösungen nach Zusatz von Luminol. Allerdings zeigte es sich, daß die Untersuchungen mit Acetaldehyd sehr unregelmäßige Ergebnisse aufwiesen. Während bei einigen Lösungen ein deutliches Leuchten zu beobachten war, reagierten

[1] Toscano Rico J., u. A. Malafaya Baptista: C. r. Soc. Biol. **118**, 1118 (1935); **120**, 545 (1935); Malafaya Baptista: Ebenda **120**, 547 (1935); sowie Inactivacao da Adrenalina no Organismo. Lisboa 1938. — [2] Bayer, G., u. Th. Wense: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 114 (1937). — [3] Bayer, G., u. Th. Wense: Arch. internat. Pharmacodyn. **58**, 103 (1937). — [4] Albrecht, H. D.: Z. phys. Chem. **136**, 321 (1928).

andere, gleichstarke Aldehydverdünnungen nicht oder nur in kaum erkennbarer Weise. Wir gingen nun daran, die Ursache dieser Unregelmäßigkeit zu untersuchen.

Es konnte festgestellt werden, daß die Stärke des Leuchtens bei der Luminolprobe und somit der Gehalt der Acetaldehydlösungen an Peroxyd vom Alter der Aldehydverdünnungen abhängig ist. Da die Beurteilung der Leuchtstärke der Proben namentlich nach verschiedenen Zeiten schwer durchzuführen war, und das Auge zur Erkennung kleinster Lichtmengen auch nach stundenlanger Akkomodation im Dunkeln zu wenig empfindlich schien, versuchten wir die Proben zu photographieren, um in der verschieden starken Schwärzung der Platten ein Maß für die Lumineszenz des Aldehyds zu haben.

Hierzu stellten wir uns ein Gefäß für etwa 30 ccm Flüssigkeit aus einem Glasrohr von ungefähr 8 cm Höhe und 2,5 cm Durchmesser her, das außen mit Silber-

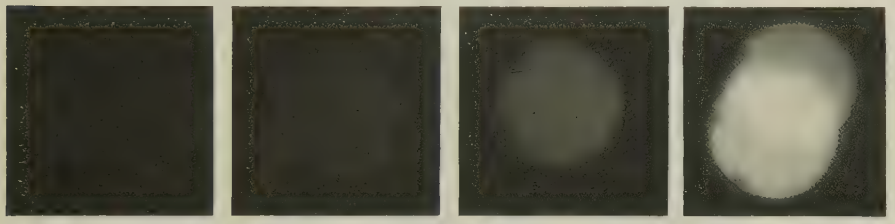


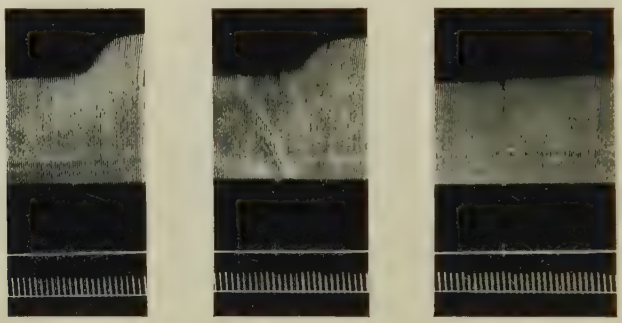
Abb. 1. Die Zunahme des Leuchtens einer 5%igen Acetaldehydlösung mit Luminol im Laufe von 3 Wochen bei Zimmerwärme und mäßig heller Aufbewahrung, Januar/Februar 1938. a) Acetaldehydverdünnung frisch bereitet; b) Acetaldehydverdünnung 8 Tage alt; c) Acetaldehydverdünnung 14 Tage alt; d) Acetaldehydverdünnung 22 Tage alt. (Zu Teilbild d: das Glasgefäß hatte sich während der Belichtungszeit verschoben.)

papier belegt wurde, um die Lichtstrahlen im Innern zu reflektieren. Der Boden bestand aus einer aufgeklebten dünnen Glasplatte, wie sie als Deckglas für größere mikroskopische Präparate verwendet wird, eine dickere stanniolbelegte Platte diente als Deckel. In dieses Gefäß kamen 3 ccm Luminolreagens, das wir aus 3-Amidophthalhydrazid „Fraenkel-Landau" im Verhältnis 1 : 1000 in 1% Natriumcarbonat gelöst mit Zusatz einer Spur Hämin „Merck" hergestellt hatten. Dann wurde das Gefäß in der Dunkelkammer auf die Schichtseite einer panchromatischen Agfa-Isopan-Super-Spezialplatte gestellt und 27 ccm der zu untersuchenden Acetaldehydlösung eingefüllt. Das Glas blieb stets genau 10 Minuten auf der Platte, die dann mit Agfa-Rodinal entwickelt wurde.

Bei dieser Untersuchung zeigte sich, daß ganz frisch bereitete Aldehydverdünnungen (Acetaldehyd puriss. „Merck") überhaupt keine Lumineszenz aufwiesen. Erst nach ungefähr achttägigem Stehen bei Zimmertemperatur zeichnete sich der erste Schatten auf der Platte ab, nach 14 Tagen war ein deutliches Leuchten zu sehen, dessen Stärke und Dauer sich nach 3 Wochen noch vergrößert hatte, um dann von der 4. Woche an wieder abzunehmen (vgl. Abb. 1). Eine Kontrolle der Wasserstoffionenkonzentration mit dem Lautenschlägerschen Ionometer ergab ein Zunehmen der Acidität der

5%igen Acetaldehydlösung nach einem Monat von p_H 5,05 auf 4,30. Sonnenbelichtete Aldehydproben erreichten nach gleicher Zeit schon ein p_H von 3,38, ein Zeichen dafür, daß der Weg Acetaldehyd-Peroxyd-Essigsäure schon fast zu Ende beschritten war.

Nachdem auf diese Weise der Nachweis erbracht war, daß Acetaldehydlösungen Peroxyd enthalten, und zwar abgestandene Verdünnungen mehr enthalten als frischbereitete, und wir vermutet hatten, daß durch das Peroxyd Adrenalin inaktiviert wird, war es naheliegend, die Adrenalinzerstörung mit verschieden alten Aldehydlösungen zu versuchen, ob etwa abgestandene Verdünnungen stärker Adrenalin inaktivieren. Wie eingangs bereits erwähnt, waren wir seinerzeit nicht imstande gewesen, die von den portugiesischen Forschern genannten Zeiten der Adrenalininaktivierung zu erreichen. Während Malafaya in der von ihm als Versuch „A" beschriebenen



a b c

Abb. 2. Atropinisiertes Froschherz. Zeitschreibung 6 Sekunden. a) Adrenalin 1 : 200000 nach 30 Minuten bei 38° C; b) ebenso, aber mit 200/m frisch bereiteter Acetaldehydlösung; c) ebenso, aber mit 3 Wochen alter Acetaldehydverdünnung.

Anordnung die Wirkung einer Adrenalinlösung 1 : 200000 auf ein Froschherz durch m/200 Acetaldehyd in 30 Minuten zum Erlöschen bringen konnte, war es uns in zahlreichen Versuchen stets nur möglich gewesen, diese Adrenalinwirkung abzuschwächen, wenn wir den Acetaldehyd etwa dreimal längere Zeit einwirken ließen. Wir hatten unsere unbefriedigenden Ergebnisse unter anderem auch auf etwa ungeeignete Reagenzien zurückzuführen versucht und uns bemüht, nur mit ganz frisch bereiteten Lösungen zu arbeiten. Jetzt wurde es klar, daß gerade darin die Ursache für das verschiedene Ergebnis zu suchen war.

Wir wiederholten daher den Adrenalinzerstörungsversuch „A", den wir in unserer zuerst genannten Veröffentlichung ebenfalls als Beispiel angeführt hatten, mit abgestandenen Aldehydverdünnungen, und sahen, daß eine 3 Wochen alte Acetaldehydlösung eine vollständige Inaktivierung der verwendeten Adrenalinkonzentration (Supranin „Bayer") in 30 Minuten bewirkte (vgl. Abb. 2). Weitere Wiederholungen ließen uns dieses Ergebnis

auch mit Aldehydverdünnungen erzielen, die einige Stunden in starkem Sonnenlicht gestanden hatten. Durch die Luminolprobe und durch Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration vermochten wir uns stets über den Peroxydgehalt des Acetaldehyds und damit über den Grad der zu erwartenden Adrenalininaktivierung zu unterrichten.

Zusammenfassung.

Die Luminolprobe beweist das Vorhandensein von Peroxyd in Acetaldehydlösungen; der Gehalt an Peroxyd in abgestandenen Aldehydverdünnungen ist größer als in frischbereiteten. Das Peroxyd im Acetaldehyd vermag Adrenalin zu inaktivieren, daher erweisen sich abgestandene Aldehydlösungen in dieser Hinsicht als wirksamer.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen.

Zur Pharmakologie des 3. 6-Diaminocholestan.

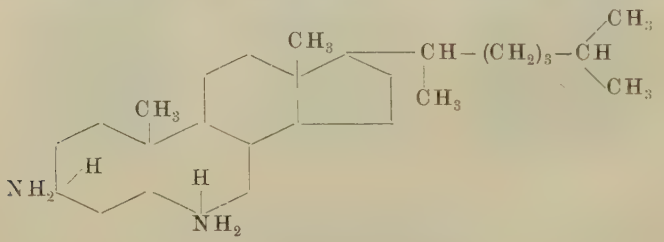
Von

Harry Stückradt.

(Eingegangen am 1. November 1938.)

Herr Prof. Windaus stellte als Lösungsmittel für die carcinogenen Kohlenwasserstoffe und für die Sterine die Cholestenonsulfosäure sowie das 3, 6-Diaminocholestan dar. Die Cholestenonsulfosäure wurde kürzlich am hiesigen Institut untersucht* und zeigte dabei große Ähnlichkeiten mit den Saponinen. Wir veröffentlichen unsere Versuche, um einen Beitrag zu dem Kapitel „Konstitution und Wirkung" zu bringen.

Das Diaminocholestan löst sich schlecht in Wasser. Um es besser wasserlöslich zu machen, wurde es in das salzsaure Salz umgewandelt. Herr Prof. Windaus überließ uns freundlicherweise die pharmakologischen Untersuchungen. Das Diaminocholestan zeigt folgende Struktur:



3, 6 Diaminocholestan.

Chemisch-physikalische Eigenschaften.

Molekulargewicht 474.

Wir stellten zunächst eine n/10-Lösung her, die beinahe 5 % ist. Die mit dem Stalagmometer gemessene Oberflächenaktivität dieser Lösung ergab, daß unter gleichen äußeren Bedingungen auf 100 Tropfen aqua dest. 186 Tropfen unserer Lösung kamen gegenüber 194 Tropfen der n/10 Cholestenonsulfosäure. Die n/10-Lösung reagiert sauer gegen Lackmus. Beim Versuch, diese Lösung mit Na_2CO_3 zu neutralisieren, fällt der Stoff aus, noch bevor es zur Neutralisation kommt. Daraufhin verdünnten wir die n/10-Lösung auf n/50, worauf der Stoff wieder in Lösung ging und neutralisierten nun diese Lösung mit Na_2CO_3. Diese neutralisierte n/50-Lösung (etwa 1 %ig) diente als Ausgangslösung für unsere Versuchsreihen.

* Heinemann, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 316 (1938).

Letale Dosis.

Bei intravenöser Injektion liegt die letale Dosis für das Kaninchen bei 0,015—0,017 g pro kg Tier. Der Tod tritt innerhalb 5—15 Minuten nach der Injektion ein. Die Symptome der Vergiftung sind diejenigen der allgemeinen Lähmung, beginnend an den hinteren Extremitäten, anschließend stark verlangsamte und schließlich stehende Atmung bei weiten Pupillen. Das Herz schlägt noch nach stillstehender Atmung für kurze Zeit. Analog verhalten sich Ratten bei intravenöser Injektion, nur scheinen hier die letalen Dosen etwas höher zu liegen.

0,03 g pro kg Tier — Tod nach 8 Std.
0,05 g pro kg Tier — Tod tritt sofort nach Injektion ein, jedoch überlebten auch einige Tiere die Injektion.
0,1 g pro kg Tier — Tod nach $1^1/_2$ Std.

Die letale Dosis bei subcutaner Injektion ist für Ratten größer als 0,4 g pro kg und bei Mäusen größer als 0,8 g pro kg Tier.

Ratte pro kg Tier subcutan	Maus pro kg Tier subcutan
0,2 g, lebt	0,2 g, lebt
0,4 g, lebt	0,4 g, lebt
	0,8 g, lebt

Der Übersicht wegen sei hier nochmals eine vergleichende Tabelle der letalen Dosen wiedergegeben:

Intravenöse Injektion:

Kaninchen:	0,015—0,017 g pro kg Tier
Ratte	0,03 —0,1 g pro kg Tier

Subcutane Injektion:

Ratte:	größer als 0,4 g pro kg Tier
Maus:	größer als 0,8 g pro kg Tier

Cholesterin und 3, 6-Diaminocholestan.

Da das 3, 6-Diaminocholestan Sterine zu lösen vermag, liegt es nahe anzunehmen, daß es auch im Organismus mit dem Cholesterin reagiert und daß man nach der intravenösen Injektion Veränderungen am Blutcholesterin feststellen könnte. Wir bestimmten nach Autenrieth das Gesamtcholesterin im Serum eines Kaninchens vor der Injektion, 3 Stunden nach der Injektion sowie 6 Tage nach der Injektion. Injiziert wurde $^1/_5$ der letalen Dosis. Die zu obigen Terminen entnommenen Serumproben ergaben jedoch Werte, die man noch innerhalb der Fehlergrenze als konstant bezeichnen kann.

6. VII. 1938.	Gesamtcholesterin	in	100 ccm	Serum vor Injektion	83 mg
6. VII. 1938.	„	„	100 „	„ 3 Std. nach Injektion	90 „
12. VII. 1938.	„	„	100 „	„	87 „

Verhalten der Zahlen der Erythrocyten und Leukocyten.

Gleichzeitig bestimmten wir bei dem Kaninchen, das uns zu unseren Cholesterinbestimmungen diente, die Zahl der Erythrocyten und Leukocyten. Die Erythrocytenzahlen sanken nach der Injektion ab und hatten nach 10 Tagen ihren Ausgangswert noch nicht wieder erreicht. Die Zahl der Leukocyten blieb unverändert.

6. VII. 1938: Vor der Injektion	6,2 Mill. Erythrocyten,	10 000 Leukocyten
6. VII. 1938: 3 Std. nach Injektion	5,1 „ „	10 000 „
12. VII. 1938:	5,4 „ „	10 000 „

Hämolyseversuche.

Die 1 %ige neutralisierte Lösung unseres Präparates wird mit Ringerlösung in steigender Höhe verdünnt. Dabei entstehen in den konzentrierteren Lösungen Trübungen, die wir auf das ausfallende Präparat zurückführen möchten. Zu je 10 ccm dieser Lösung werden 5 Tropfen defibriniertes Schweineblut bzw. Rinderblut zugesetzt.

A. Schweineblut.

In der 0,1 %igen Präparatlösung tritt nach Zusatz des Blutes ein klumpiger Niederschlag auf. Nach Umschütteln läßt sich im oberen Teil des Reagensglases Hämolyse erkennen, der größere untere Teil ist stark getrübt. Nach 24 Stunden bildet sich ein milchig-rosa Niederschlag aus, der etwa $^1/_3$ des Reagensglases ausmacht.

0,01 %ige Präparatlösung:	Hämolyse nach 5 Min. mit einem die Kuppe des Reagensglases ausfüllenden milchig-rosa gefärbten Bodensatz.
0,001 %ige „	Hämolyse nach 5 Min.; roter Bodensatz in Spuren.
0,0001 %ige „	Nach 24 Std. Spur von Hämolyse; roter Bodensatz.
0,00001 %ige „	Keine Hämolyse; über rotem Bodensatz farblose Lösung.

B. Rinderblut.

Es zeigten sich prinzipiell die gleichen Ergebnisse, nur daß bei der 0,0001 %igen Präparatlösung keine Hämolyse mehr auftritt. Die Rinderblutkörperchen sind also gegenüber dem 3,6-Diaminocholestan etwas weniger empfindlich als die Schweineblutkörperchen. Die gleiche Feststellung haben wir bei der Cholestenonsulfosäure gemacht und sie ist auch von den Saponinen bekannt. Bei der chemischen Affinität des 3,6-Diaminocholestans zu den Sterinen liegt es nahe, anzunehmen, daß nach Absättigung unserer Versuchslösungen mit Cholesterin eine Hämolyse nicht mehr stattfindet. Die obigen Verdünnungen unseres Präparates wurden zu diesem Zwecke mit jeweils 2 Tropfen einer 0,5 %igen alkoholischen Cholesterinlösung versetzt. Dabei trüben sich die Versuchslösungen leicht bläulich.

(Additionsverbindung? Ausfallendes Cholesterin?) Die Versuchsreihen zeigten eine nur geringe Hemmung der Hämolyse. Lediglich die partielle Hämolyse der 0,001 %igen Auflösung unseres Präparates in Ringer, die schon nach 5 Minuten eintritt, kommt durch den Cholesterinzusatz erst nach 24 Stunden zustande und ist abgeschwächt.

Nach diesem Vorversuch setzten wir der sicher hämolysierenden 0,01 %igen Präparatlösung steigende Mengen einer 0,5 %igen alkoholischen Cholesterinlösung zu, da ja die Vermutung nahe lag, daß im Vorversuch die einzelnen Verdünnungen nicht genügend mit Cholseterin abgesättigt wären. Es zeigte sich jedoch, daß trotz steigender Zusätze von Cholesterin die stark hämolytische Wirkung einer 0,01 %igen Präparatlösung nicht verhindert werden konnte. Auch bemerkten wir keinen Unterschied zwischen Rinder- und Schweineblut.

Steigerung der Hämolyse durch Saponinzusatz.

Anschließend wurden noch die kombinierte hämolytische Wirkung von Saponin und unserem Präparat untersucht. Wir nahmen Sapon. pur. alb., welches in einer Konzentration von 0,0005 % nicht mehr hämolysierend wirkt. Zu 10 ccm einer 0,5 %igen Saponinlösung wurde 1 ccm der 0,01 %igen Lösung unseres Präparates zugesetzt. Von dieser Saponin-Diaminocholestanlösung wurden weitere Verdünnungen hergestellt. Würde keine Wirkungssteigerung eintreten, so würde man eine Hämolyse nur bis zu den Verdünnungen erwarten, die eine Mindestkonzentration von 0,005 % Saponin enthalten, da im Vorversuch mit dieser Konzentration noch Hämolyse erzielt worden war. In einer derartigen Verdünnung würde der Gehalt unseres Präparates mit 0,0001 % nur noch Hämolyse in Spuren machen. Statt dessen tritt jedoch eine starke Wirkungssteigerung auf. Sämtliche Reagensgläser bis zu einer Verdünnung auf 0,00000005 % Saponin + 0,000000001 % unseres Präparates (weitere Verdünnungen wurden nicht hergestellt) zeigten Hämolyse.

Eiweißfällung.

Die klumpige Ausfällung, die wir bei den ersten Hämolyseversuchen sahen, veranlaßte uns, nachzusehen, ob man mit unserem Präparat Eiweiß ausfällen kann. Dabei zeigte es sich, daß die 1 %ige neutrale Lösung mit unverdünntem Serum einen gelbbraunen Niederschlag und mit einer Serumverdünnung von 1 : 1000 noch eine deutliche Trübung gibt (5 ccm Serum bzw. Verdünnung + 2 Tropfen 1 %ige neutrale Präparatlösung).

Lokale Wirkung.

Die Prüfung am Kaninchenauge ergab für die 1 %ige neutrale Präparatlösung eine etwa 20 Minuten anhaltende Anästhesie der Cornea. Gleichzeitig traten Rötung und Schwellung der Conjunctiva sowie Tränenträufeln

und Lichtscheu als Zeichen der conjunctivalen Reizung auf. Die 0,1 %ige Lösung machte keine Reizerscheinung und auch keine Anästhesie.

Froschherz.

Am Froschherz nach Straub machen die 0,1 %ige und die 1 %ige neutrale Lösung unseres Präparates eine Lähmung in Diastole, welche irreversibel ist. Die Lähmung beginnt mit einer Verkleinerung der Pulsationen, Auftreten einiger Extrasystolen und nur geringer Frequenzverminderung. Schließlich sind Herzaktionen nicht mehr zu erkennen. Ein förderndes Stadium wie bei der Cholestenonsulfosäure wurde auch mit geringer konzentrierten Lösungen nicht beobachtet. 0,01—0,0001 %ige Lösungen erschienen wirkungslos.

Blutdruckversuch.

Der Blutdruckversuch am Kaninchen zeigt, daß es erst nach der Eingabe letaler Dosen zum Absinken des Blutdruckes und Kleinerwerden der einzelnen Pulse kommt. Ein Ansteigen oder Abfallen des Blutdruckes wurde bei geringeren Dosen nicht beobachtet. Schon kurz vor dem Abfall des Blutdruckes nach Injektion der letalen Dosis setzt die Atmung zeitweise aus, wird dann aber wieder vorübergehend regelmäßig, um schließlich bis kurz ante exitum zu sistieren. Kurz vor dem Tode waren noch einzelne flache Atemzüge zu beobachten.

Gefäßwandwirkung.

Die Gefäßwandwirkung untersuchten wir am Froschdurchströmungspräparat. (Nackenstich, Ausbohren des Z.N.S., Freilegung des Herzens, Einlegen einer Kanüle durch den Ventrikel in die Aorta, Anschneiden der Vorhöfe, Durchströmen mit Froschringer). Das auftretende Ödem wird in g, die auströpfelnde Flüssigkeit in ccm gemessen. Die Durchströmung erfolgt nach vollständiger Entblutung zunächst 15 Minuten mit Froschringer, dann 15 Minuten mit der Giftlösung und anschließend wieder 15 Minuten mit Froschringer. Dabei zeigte es sich, daß eine

0,05 %ige neutrale Präparatlösung (in Ringer) sowohl die Durchflußmenge als auch das Gewicht des schon vorhandenen Ringerödems vermindert. Die

0,005 %ige neutrale Präparatlösung zeigt ähnliche Erscheinungen. Es kommt während der Durchströmung nur zu einer vorübergehenden geringfügigen Erhöhung des in den ersten 15 Minuten erzielten Ringer-Ödems. Die

0,00005 %ige Präparatlösung ergibt Werte, die denen der nur mit Ringer durchströmten Froschpräparate gleichkommen.

Die Zahlenwerte der Durchströmungsversuche werden in der folgenden Tabelle wiedergegeben. Das Ödem wurde in g gemessen. Ödem der ersten 15 Minuten wird gleich 1 gesetzt. Spätere Werte unter 1 bedeuten also Verringerung des in den ersten 15 Minuten erzeugten Ringer-Ödems. Durchfluß der ersten 15 Minuten wird gleich 100 gesetzt.

Ödem			Durchfluß		
Ringer 1	0,05% Diamino-cholestan 0,68	Ringer 0,68	Ringer 100	0,05% Diamino-cholestan 13,5	Ringer 3,1
Ringer 1	0,005% Diamino-cholestan 1,13	Ringer 1	Ringer 100	0,005% Diamino-cholestan 29	Ringer 3,1
Ringer 1	0,0005% Diamino-cholestan 1,16	Ringer 1,2	Ringer 100	0,0005% Diamino-cholestan 71	Ringer 59
Ringer 1	0,00005% Diamino-cholestan 1,5	Ringer 1,8	Ringer 100	0,00005% Diamino-cholestan 104	Ringer 108

Im Vergleich zu der Cholestenonsulfosäure läßt sich feststellen, daß sowohl diese als auch das 3, 6-Diaminocholestan in höherer Konzentration eine Abnahme des in den ersten 15 Minuten erzeugten Ringer-Ödems machen, jedoch nimmt der Durchfluß bei unserem Präparat sehr stark ab. Eine Verstärkung des Ödems durch geringer konzentrierte Lösungen war bei unserem Präparat nicht vorhanden, ist jedoch auch bei der Cholestenonsulfosäure nur gering. Die Saponine zeigen in höheren Konzentrationen ähnliche Erscheinungen wie die Cholestenonsulfosäure und das 3, 6-Diaminochelostan. In den niedrigeren Konzentrationen (0,01—0,001%) tritt jedoch bei den Saponinen die auflockernde Wirkung auf die Membranen weitgehend stärker hervor.

Schluß.

Das 3, 6-Diaminocholestan erniedrigt die Oberflächenspannung des Wassers etwas geringer als die Cholestenonsulfosäure. Die letale Dosis beträgt bei intravenöser Injektion für das Kaninchen 0.015—0.017 g pro kg Tier. Ratten sind etwas weniger empfindlich (0,03—0,1 g pro kg). Bei intravenöser Injektion ist also das 3, 6-Diaminocholestan giftiger als die Cholestenonsulfosäure, deren letale Dosis für das Kaninchen etwa 0,0386 g pro kg ist.

Bei subcutaner Injektion zeigte es sich, daß für Mäuse die Cholestenonsulfosäure der giftigere Stoff ist (0,15 g pro kg). Für das 3, 6-Diaminocholestan ist die subcutane letale Dosis größer als 0,6 g pro kg.

Das Diaminocholestan hat hämolytische Eigenschaften, die wie die Cholestenonsulfosäure ebenfalls durch Cholesterin gehemmt werden. Beiden gemeinsam ist die Verstärkung der Hämolyse durch Saponinzusatz. Gegenüber dem 3, 6-Diaminocholestan sowie der Cholestenonsulfosäure und den Saponinen sind Schweineblutkörperchen empfindlicher als Rinder-

blutkörperchen. Beide Erscheinungen weisen darauf hin, daß sowohl die Cholestenonsulfosäure als auch das Diaminocholestan an dem gleichen Angriffspunkt wie die Saponine ansetzen, nämlich am Cholesterin des Blutkörperchens.

Das 3,6-Diaminocholestan bildet im Reagensglas mit Serum einen Niederschlag.

Am Kaninchenauge kommt es bei Verwendung einer 1%igen Lösung zur Anästhesie der Cornea und gleichzeitiger Conjunctivitis, die gleichen Erscheinungen, die wir schon bei der Cholestenonsulfosäure in verstärktem Maße festgestellt hatten.

Am isolierten Froschherz macht die 0,1%ige Lösung einen diastolischen Stillstand, während die Cholestenonsulfosäure in einer Konzentration von 0,3% einen systolischen Stillstand macht. Ein förderndes Stadium, wie bei der Cholestenonsulfosäure war nicht zu beobachten.

Der Blutdruck fällt erst nach Eingabe letaler Dosen ab. Ein vorübergehendes Abfallen des Blutdruckes nach Eingabe geringerer Dosen wie bei der Cholestenonsulfosäure beobachteten wir nicht.

Am durchströmten Frosch tritt bei den konzentrierteren Lösungen eine Abnahme des Ödems wie bei der Cholestenonsulfosäure und auch bei den Saponinen ein. Es fehlt jedoch die fördernde Wirkung auf das Ödem, die bei geringeren Konzentrationen der Saponine sehr stark und bei der Cholestenonsulfosäure angedeutet ist.

Zusammenfassung.

Im Gegensatz zu der Cholestenonsulfosäure ist das 3, 6-Diaminocholestan ein rein lähmender Körper, während die Cholestenonsulfosäure Krämpfe veranlaßt. Ebenso zeigt sich die Wirkung auf das Froschherz verschieden: Cholestenonsulfosäure macht systolischen, Diaminocholestan diastolischen Stillstand. Gleich verhalten sich beide Körper hinsichtlich der hämolytischen Wirkung und der Erniedrigung der Oberflächenspannung. Dabei ist die Cholestenonsulfosäure der wirksamere Stoff. Sie haben also vermutlich den gleichen Angriffspunkt, nämlich das Cholesterin der Blutzellen.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik, Leipzig.
(Direktor: Prof. Dr. M. Bürger.)

Untersuchungen über die Absorption von rotem und ultrarotem Licht durch kohlenoxydgesättigtes, sauerstoffgesättigtes und reduziertes Blut.

Von

K. Matthes und **F. Gross.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. September 1938.)

Der Farbunterschied zwischen Oxyhämoglobin und reduziertem Hämoglobin ermöglichte den Ausbau einer Methode zur fortlaufenden Registrierung der Sauerstoffsättigung im strömenden Blute (Kramer[1], Matthes[2]). Es wurde die Lichtabsorption des Blutes in einem Spektralbezirk, der große Unterschiede zwischen den Extinktionen von O_2-Hb und Red-Hb aufwies, fortlaufend mit einer Photozelle aufgezeichnet. Vergleicht man die spektrale Farbkurve des Oxyhämoglobins und des reduzierten Hämoglobins, so sieht man, daß in verschiedenen Teilen des Spektrums erhebliche Unterschiede zwischen der Lichtabsorption von Oxy-Hb und Red-Hb bestehen, die für eine lichtelektrische Bestimmung der Sauerstoffsättigung ausgenutzt werden können. So verwandte Nicolai[3] und später Matthes[4] die isolierten Linien 546 und 577, 579. Millikan[5] verwandte den blauen Teil des Spektrums, Kramer[1] und Matthes[2] arbeiteten mit langwelligem roten Lichte. Zur fortlaufenden Registrierung der Sauerstoffsättigung im strömenden Blute erwies sich das langwellige rote Licht als weitaus am geeignetsten, da in den kurzwelligeren Teilen des Spektrums die Lichtabsorption des Hämoglobins eine so starke ist, daß nur sehr dünne Blutschichten mit den üblichen Lichtquellen durchleuchtet werden können. Es ist aber sehr schwierig, in sehr dünnen Blutschichten (unter 1 mm) eine gleichmäßige Strömung des Blutes zu unterhalten, auch ist die Lichtabsorption so dünner Blutschichten unter anderem eine Funktion der Strömungsgeschwindigkeit des Blutes (Kramer[1]).

Als wir uns die Aufgabe stellten, neben Oxyhämoglobin und reduziertem Hämoglobin auch das Kohlenoxydhämoglobin im strömenden Blute fortlaufend zu registrieren, war es uns daher klar, daß die bekannten und von

[1] Kramer, K.: Z. Biol. **96**, 61 (1935); **95**, 126 (1934). — [2] Matthes, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 698 (1935). — [3] Nicolai, L.: Pflügers Arch. **229**, 372 (1932). — [4] Matthes, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **176**, 683 (1934). — [5] Millikan, G.: J. Physiol. **79**, 158 (1933).

verschiedenen Autoren (Hartmann[6], Hüfner[7], Heilmeyer[8]) benutzten Absorptionsunterschiede zwischen CO-Hb einerseits, O_2-Hb und Red-Hb andererseits im gelben, grünen und blauen Teil des Spektrums für die fortlaufende Registrierung im strömenden Blute nicht in Frage kommen, da es mit derartigem Lichte nicht möglich ist, eine ausreichende Schichtdicke nativen Blutes wirksam zu durchleuchten. Für unsere Untersuchungen kam nur der langwellige Teil des Spektrums (rot und ultrarot) in Frage, da in diesem Bereich alle drei Blutfarbstoffe eine relativ sehr große Lichtdurchlässigkeit aufweisen. Wegweisend war für uns die Beobachtung von O. Merkelbach[9], Eggert[10], daß kohlenoxydhaltiges Blut und Kohlenoxydhämoglobin für Infrarotstrahlen sehr viel durchgängiger ist als sauerstoffgesättigtes und reduziertes Blut bzw. Hämoglobinlösungen.

Es lag daher nahe, der fortlaufenden Registrierung der Lichtabsorption des Blutes im roten Lichte eine solche im ultraroten Lichte zur Seite zu stellen.

Will man im Blute oder in einer Hb-Lösung nebeneinander die Konzentration von zwei Blutfarbstoffen, z. B. O_2-Hb und Red-Hb oder O_2-Hb und CO-Hb auf photometrischem bzw. photoelektrischem Wege feststellen, so stehen dafür zwei Wege zur Verfügung. Ist die Gesamtkonzentration des Hämoglobins einer Blutprobe bekannt, oder kann sie durch eine Messung der Lichtabsorption der Blutprobe, nachdem alles Hb in einen einheitlichen Zustand übergeführt ist (oxydiert, reduziert oder CO-gesättigt), festgestellt werden, so genügt eine zweite Messung der Lichtabsorption der Blutprobe in ihrem ursprünglichen Zustand im gleichen Spektralbezirk, um den prozentualen Anteil des zweiten Blutfarbstoffs festzustellen (die mathematische Formulierung dieser Möglichkeit findet sich bei Kramer[1] und bei Hartmann[6]). Kennt man die Konzentration des Gesamt-Hb nicht, oder will oder kann man nicht einen Teil der Blutprobe durch Reduktion, Oxydation oder CO-Sättigung in einen einheitlichen Zustand überführen, so muß man die Lichtabsorption der Blutprobe in zwei verschiedenen geeigneten Spektralbezirken messen. Das Verhältnis der Extinktionen bei den verschiedenen Wellenlängen ist dann ein Maß der relativen Konzentration der beiden Farbstoffe, die sich in das Gesamthämoglobin teilen. Die absoluten Werte der Lichtextinktion ergeben die Konzentration des Gesamthämoglobins. So kann man mit Hilfe des Hüfnerschen Quotienten die Sauerstoffsättigung einer Hämoglobinlösung ermitteln oder die Menge von CO-Hb neben O_2-Hb feststellen (Heilmeyer[8]). Neuerdings hat Hartmann[6] ein auf diesem Prinzip beruhendes Verfahren zum Nachweis von CO-Hb neben O_2-Hb durch Differenzphotometrie mit Photozellen ausgebaut.

---

[6] Hartmann, H.: Erg. d. Physiol. **39**, 413 (1937). — [7] Hüfner: Engelmanns Arch. f. Anat. u. Physiol., Physiol. Abt. 1200, S. 39. — [8] Heilmeyer: Medizinische Spektrophotometrie, Jena 1933. — [9] Merkelbach, O.: Schweiz. med. Wschr. **1935**, S. 1142. — [10] Eggert, J.: Naturwissenschaften 1935, S. 281.

Bei der Registrierung der Lichtdurchlässigkeit des Blutes gleichzeitig in zwei verschiedenen Spektralbezirken kann man aus einer Messung die Sauerstoffsättigung und die Konzentration des Gesamthämoglobins ermitteln, für die fortlaufende Registrierung der Lichtdurchlässigkeit des strömenden Blutes ergibt sich daraus die Möglichkeit, nebeneinander rasch verlaufende Schwankungen des Gesamthämoglobins und der Sauerstoffsättigung zu erkennen und quantitativ zu erfassen.

Ist Kohlenoxyd im Blute vorhanden, so haben wir es mit drei Blutfarbstoffen zu tun, die sich in das Gesamt-Hb teilen, CO-Hb, Red-Hb und O_2-Hb. Durch Registrierung der Lichtdurchlässigkeit des Blutes in zwei Spektralbezirken gleichzeitig gelingt es, den prozentualen Anteil jedes dieser drei Farbstoffe am Gesamt-Hb zu ermitteln. Wir befinden uns dabei in der gleichen Lage wie bei der Registrierung der Sauerstoffsättigung des Blutes in nur einem Spektralbezirk: Die Konzentration des Gesamthämoglobins muß durch eine besondere Messung ermittelt werden, nachdem das Hämoglobin in einen einheitlichen Zustand überführt worden ist. Änderungen der Lichtdurchlässigkeit des strömenden Blutes können also nur dann ohne weiteres als Schwankungen des Anteils der drei Blutfarbstoffe am Gesamthämoglobin gedeutet werden, wenn Konstanz des Gesamthämoglobins angenommen werden kann.

Arbeitet man mit hämolysiertem Blute und mit monochromatischem Lichte, so gilt das Lambert-Beersche Gesetz (Kramer[1], Heilmeyer[8], Hartmann[6]). Man kann dann das Problem durch Messung der Lichtabsorption in zwei verschiedenen Spektralbezirken die relativen Konzentrationen der drei Blutfarbstoffe zu ermitteln, mathematisch in folgender Weise formulieren.

Es seien:

$$E = -\log \frac{i}{i_0} = e \cdot c \cdot d \quad (1) \qquad \text{und} \qquad E' = -\log \frac{i'}{i_0} = e' \cdot c \cdot d \quad (2)$$

die Extinktionen E und E' der in einem einheitlichen (CO-gesättigten) Zustand überführten Blutprobe bei der Schichtdicke d, der Gesamt-Hb-Konzentration c und den Extinktionskoeffizienten e und e' des CO-Hb in den beiden verwendeten Spektralbezirken. $\frac{i}{i_0}$ bzw. $\frac{i'}{i_0}$ ist das Verhältnis der durch die Absorption geminderten Lichtintensität zur ursprünglichen Lichtintensität.

Nach dem Lambert-Beerschen Gesetz sind

$$E_1 = e\,(c - x - y) \cdot d + e_1\, xd + e_2\, yd \quad (3)$$

und

$$E'_1 = e'\,(c - x - y)\, d + e'_1\, xd + e'_2\, yd \quad (4)$$

die Extinktionen der ursprünglichen Blutprobe, wenn x und y die Konzentration des O_2-Hb und Red-Hb, e_1 und e_2 sowie e'_1 und e'_2 die Extinktions-

koeffizienten des O_2-Hb und Red-Hb in den beiden Spektralbezirken bedeuten.

Ferner sei:

$$p\,x = 100 \cdot \frac{x}{c} \quad (5) \qquad \text{und} \qquad p\,y = 100\,\frac{y}{c} \quad (6)$$

der prozentuale Anteil des O_2-Hb und Red-Hb am Gesamthämoglobin. Durch einfache Umformung und Substitution von Gleichung (1), (2) und (5), (6) in (3) und (4) entsteht

$$100 \cdot \frac{E_1 - E}{E} = p\,x \cdot \frac{e_1 - e}{e} + p\,y \cdot \frac{e_2 - e}{e} \tag{7}$$

und

$$100 \cdot \frac{E_1' - E'}{E'} = p\,x \cdot \frac{e_1' - e'}{e'} + p\,y \cdot \frac{e_2' - e'}{e'}. \tag{8}$$

Eliminiert man aus (7) $p\,y$ durch Einsetzen von (8), so entsteht

$$p\,x = 100\,\frac{\dfrac{E_1 - E}{E} - \dfrac{e'}{e} \cdot \dfrac{e_2 - e}{e_2' - e'} \cdot \dfrac{E_1' - E'}{E'}}{\dfrac{e_1 - e}{e} - \dfrac{e'}{e} \cdot \dfrac{e_2 - e}{e_2' - e'} \cdot \dfrac{e_1' - e'}{e'}}. \tag{9}$$

Man sieht aus diesen Formeln, daß es beim Arbeiten mit hämolysiertem Blute und mit monochromatischem Lichte genügt, die Lichtabsorption einer Blutprobe, die alle drei Blutfarbstoffe enthält, einmal in ihrem ursprünglichen Zustand und einmal nach Überführung alles Hämoglobins in einen einheitlichen Zustand zu messen, um die Konzentration des Gesamthämoglobins [nach Gleichung (1) und (2)] und den prozentualen Anteil der drei Farbstoffe [nach Gleichung (9) und (8)] zu ermitteln.

Arbeitet man jedoch mit nichthämolysiertem Blute und mit nicht völlig monochromatischem Lichte, so kann nicht mit der Gültigkeit des Beer-Lambertschen Gesetzes gerechnet werden, da Mischlichtfehler und Streuung und Reflexion des Lichtes an den roten Blutkörperchen Abweichungen bedingen können.

Wir verwenden zur Durchleuchtung des Blutes 1. das schon in den Arbeiten von Kramer[2] und Matthes[1] beschriebene rote Licht; Licht einer Glühlampe fällt durch ein Rotfilter (bei größeren Schichtdicken genügt das Blut selbst als „Rotfilter" auf eine rotempfindliche Sperrschichtphotozelle (Br. Lange, Berlin-Dahlem oder SAF Nürnberg), deren Strom von einem Spiegelgalvanometer registriert wird; 2. ultrarotes Licht. Glühlampenlicht fällt durch Agfa Ultrarotfilter 83 auf die Blutschicht und dann auf eine edelgasgefüllte Photozelle der Firma Pressler, Leipzig, mit ultrarotempfindlicher Schicht (Spezial 1 oder Spezial 2). Die Photozelle wird mit einer Vorspannung von 50 Volt betrieben (maximale Betriebsspannung angeblich 140 Volt, bei den höheren Vorspannungen leidet die

Konstanz der Photozelle). Die Photozelle wirkt unmittelbar ohne Verstärker auf ein Ruhstrat-Galvanometer, im Photozellenkreis befindet sich ein Schutzwiderstand von 0,1 Megohm. Über dem Galvanometer liegt als Shunt ein Stöpseltheostat von 5000 Ohm, mit dem sich die Empfindlichkeit des Registrierinstruments variieren läßt.

Es ist von Vorteil, zur Durchleuchtung des in einer Küvette stehenden oder des strömenden Blutes die gleiche Lichtquelle und die gleiche Küvette bzw. Durchströmungskammer zu verwenden.

Beide von uns zur Durchleuchtung des Blutes verwandten Lichtarten sind naturgemäß alles andere als monochromatisch, sie können sich nur dann wie monochromatisches Licht verhalten, wenn die Absorption des untersuchten Farbstoffes im Bereiche der Streuung der Wellenlänge des verwandten Lichtes sich nicht ändert.

Tabelle 1 zeigt die Lichtextinktion einer 1 cm dicken Schicht hämolysierten Blutes und einer 1,5 mm dicken Schicht nativen Blutes (Hammel) im roten und ultraroten Lichte. Es wurde die Lichtextinktion mit und ohne Vorschalten eines Rotfilters wiedergegeben. Blutproben von 20—50 ccm wurden durch eine halbe Stunde langes mechanisches Schütteln in einem 300 ccm fassenden Tonometer mit reinem Sauerstoff bzw. mit reinem Kohlenoxyd (bezogen aus einer Stahlflasche) vollständig mit CO bzw. O_2 gesättigt. Reduziertes Blut wurde mit Natriumhydrosulfit bereitet. Hämolyse wurde durch Zugabe von Saponin Merck in Pulverform bewirkt, das hämolysierte Blut wurde 15 Minuten lang bei 3000 Touren zentrifugiert.

Tabelle 1.

		Rot		Ultrarot	
		mit Rotfilter	ohne Filter	mit Rotfilter	ohne Filter
Nicht hämolysiertes Blut Schichtdicke 0,15 cm	CO gesättigt	0,67	1,05	0,53	0,53
	O_2 „	0,66	1,16	1,18	1,18
	reduziert	1,62	2,15	1,12	1,12
Hämolysiertes Blut ..... Schichtdicke 1 cm	CO gesättigt	0,3	0,90	0,1	0,1
	O_2 „	0,87	1,30	1,36	1,36
	reduziert	2,46	2,9	0,93	0,93

Bei der Betrachtung der Ergebnisse fällt zunächst auf, daß im roten Lichte die Lichtextinktion des reduzierten Blutes sehr viel größer ist als die von oxydiertem und kohlenoxydgesättigtem Blute. Dabei ist im roten Lichte das kohlenoxydgesättigte Blut etwas durchsichtiger als das sauerstoffgesättigte Blut. Im ultraroten Lichte dagegen ist die Lichtextinktion des kohlenoxydgesättigten Blutes sehr viel geringer als die von oxydiertem und reduziertem Blute. Reduziertes Blut ist dabei etwas durchsichtiger als oxydiertes. Während also im roten Lichte das sauerstoffhaltige Blut durchsichtiger ist als das reduzierte, ist es im ultraroten Lichte umgekehrt. Wie das Vollblut, so verhält sich auch das hämolysierte Blut, nur ist die

Lichtextinktion gleich dicker Schichten selbstverständlich beim hämolysierten Blute sehr viel geringer als beim Vollblut. Besonders auffallend ist beim hämolysierten Blute der große Unterschied in der Lichtdurchlässigkeit zwischen dem Kohlenoxydhämoglobin einerseits, dem Oxy-Hb und Red-Hb andererseits im ultraroten Lichte. Kohlenoxydhämoglobin ist im ultraroten Lichte fast so durchsichtig wie Wasser.

Durch das Vorschalten eines Rotfilters wird die Lichtextinktion des Blutes und der Hb-Lösungen im roten Lichte stets erheblich vermindert, während sie im ultraroten Lichte nahezu unbeeinflußt bleibt. Es wird also durch das Rotfilter ein Teil der Strahlung absorbiert, der auf die rotempfindliche Photozelle einwirkt, aber ein geringeres Durchdringungsvermögen für Blut hat als der Rest der Strahlung. Es handelt sich dabei um den kurzwelligeren Teil der Strahlung, der auf die Ultrarotzelle überhaupt nicht einwirkt bzw. durch das vorgeschaltete Ultrarotfilter absorbiert wird. Obwohl das Rotfilter auch einen Teil der Ultrarotstrahlung absorbiert, ändert es nicht das Durchdringungsvermögen der Ultrarotstrahlung für das Blut. Vorschalten eines Rotfilters bessert also die Monochromasie des roten Lichtes, nicht aber die des ultraroten Lichtes.

Bei unseren Untersuchungen fiel auf, daß verschiedene Blutarten sich in bezug auf die Lichtabsorption im roten und ultraroten Lichte keineswegs völlig gleichartig verhielten. So ist beim Menschenblut im ultraroten Lichte das oxydierte Blute ebenso durchsichtig oder sogar etwas durchsichtiger als das reduzierte Blut. Beim Hunde dagegen ist das reduzierte Blut im ultraroten Lichte erheblich durchsichtiger als das O_2-gesättigte Blut. Registriert man beim Hunde fortlaufend die Lichtdurchlässigkeit des strömenden Blutes im roten und ultraroten Lichte, so bewirken Schwankungen der Sauerstoffsättigung Änderungen der Photoströme der Zellen in entgegengesetzter Richtung. Beim Menschen ist dagegen die Ultrarotzelle gegen Änderungen der Sauerstoffsättigung nahezu unempfindlich. Hämolysiert man das Menschenblut, so ist wie beim Hunde das reduzierte Hämoglobin durchsichtiger als das Oxyhämoglobin. Es muß sich also um eine „Erythrocyteneigenschaft" handeln. Keinesfalls ist es ein einfacher Konzentrationseffekt (Hundeblut ist fast immer hämoglobinreicher als Menschenblut), da sowohl Menschenblut als auch Hundeblut in verschiedenen Konzentrationen und Schichtdicken untersucht wurden. In Tabelle 2 sind einige unserer Befunde über die Lichtdurchlässigkeit von Vollblut und hämolysiertem Blute bei verschiedenen Tierarten zusammengestellt. Eine „Erklärung" dieser Befunde soll hier nicht versucht werden, es sei auf die Inhomogenität des zur Durchleuchtung verwandten Lichtes sowie auf die Tatsache, daß „Trübungen" besonders in der Gegend der Absorptionsminima oft erhebliche Entstellungen der typischen Farbkurve einer untersuchten Substanz bewirken können, hingewiesen. Um einen Effekt des Reduktionsmittels kann es sich nicht handeln, da die gleichen Unterschiede bei der Registrierung der Lichtdurchlässigkeit des strömenden

Tabelle 2.

		Hundeblut		Kalbsblut		Hammelblut		Menschenblut	
		rot	ultrarot	rot	ultrarot	rot	ultrarot	rot	ultrarot
Nicht hämolys. Blut	CO gesättigt	1,25	0,69	1,28	0,77	1,24	0,77	1,09	0,63
	O_2 „	1,27	1,41	1,34	1,39	1,27	1,40	1,2	1,14
Schichtdicke 0,15 cm .	reduziert	2,72	1,45	2,17	1,31	2,30	1,36	2,4	1,22
Hämolysiertes Blut . .	CO gesättigt	1,2	0,15	1,11	0,11	0,99	0,20	1,07	0,12
	O_2 „	1,4	1,80	1,2	1,59	1,21	1,85	1,24	1,79
Schichtdicke 1 cm . . .	reduziert	3,0	1,20	3,0	1,11	2,51	1,17	2,85	1,10

Ohne Rotfilter.

Blutes in vivo wie bei der Untersuchung des Blutes in vitro gefunden werden.

Es muß nun untersucht werden, wieweit die Lichtabsorption von Hämoglobinlösungen und von Vollblut im roten und ultraroten Lichte dem Lambert-Beerschen Gesetz folgen. Zu diesem Zwecke wurden

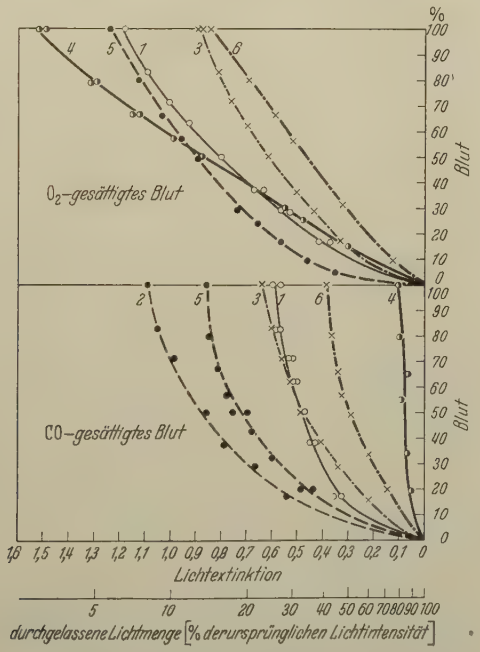


Abb. 1. Lichtabsorption von Verdünnungen von CO und O_2 gesättigtem Blut mit physiologischer NaCl-Lösung.

1. Ultrarotes Licht (mit und ohne Filter)
2. Rotes Licht ohne Filter.
3. Rotes Licht mit Rotfilter.

} Nicht hämolysiertes Blut, Schichtdicke 1,5 mm.

4. Ultrarotes Licht (mit und ohne Filter).
5. Rotes Licht ohne Filter.
6. Rotes Licht mit Rotfilter.

} Hämolysiertes Blut, Schichtdicke 10 mm.

zunächst Verdünnungsreihen von hämolysiertem Blute und von Vollblut untersucht. Verdünnt wurde mit physiologischer Kochsalzlösung, der etwas Kal.-Oxalat hinzugefügt war. Abb. 1 zeigt derartige Verdünnungsreihen für hämolysiertes und nichthämolysiertes, sauerstoffgesättigtes und CO-gesättigtes Blut. Es wurde jeweils die Konzentration des Hb (in % des Ausgangswertes) zum Logarithmus des Galvanometerausschlages, der die durchgelassene Lichtmenge registriert, in Beziehung gesetzt. Nach dem Lambert-Beerschen Gesetz [siehe oben Gleichung (1) und (2)] müßten diese Beziehungen gerade Linien ergeben. Ein Blick auf Abb. 1 zeigt, daß die dort wiedergegebenen Linien keine völlig geraden Linien sind. Es wurde jeweils die Lichtabsorption der Blutproben in verschiedenen Verdünnungen im roten und ultraroten Lichte mit und ohne Vorschaltung eines Rotfilters aufgezeichnet. Das Vorschalten des Rotfilters beeinflußt die Kurve der Lichtabsorption im Ultrarot in keiner Weise, die entsprechende Rotlichtkurve wird in Lage und Form erheblich verändert. Besonders die Verdünnungskurve des hämolysierten sauerstoffgesättigten Blutes zeigt deutlich die Wirkung des Rotfilters, die Lichtextinktion der Blutlösung ist im gefilterten roten Lichte geringer als im Weißlicht, gleichzeitig nähert sich die Form der Absorptionskurve der einer Geraden. Durch das Rotfilter wird ein Teil der Weißlichtstrahlung, das ein geringeres Durchdringungsvermögen für das Blut hat als das gefilterte Rotlicht, absorbiert (es handelt sich um die kurzwelligeren Strahlen). Betrachtet man nur die Verdünnungsgrade des Oxy-Hb von 100—40%, so liegen die entsprechenden Punkte der gefilterten Rotlichtkurve auf einer geraden Linie, das gleiche gilt für die entsprechende Verdünnungskurve des Red-Hb. Dies spricht dafür, daß das Vorschalten eines weiteren stärkeren Rotfilters die Verdünnungskurve des Oxy-Hb und des Red-Hb im roten Lichte zu einer geraden Linie machen würde. Wir haben dies experimentell geprüft und bestätigen können. Es entspricht dies auch den früheren Befunden von Kramer[1]. Die Verdünnungskurve des CO-Hb im roten Lichte sowohl wie alle Verdünnungskurven im ultraroten Lichte dagegen werden unter diesen Umständen nicht zu geraden Linien, sondern sie behalten ihre gebogene Form. Wir sind daher wohl berechtigt, den Schluß zu ziehen, daß die von uns beobachteten Abweichungen vom Lambert-Beerschen Gesetz bedingt sind durch einen Mischlichtfehler. Im Falle des reduzierten Hb und des Oxy-Hb gelingt es, durch Vorschalten eines starken Rotfilters ein Licht zu erhalten, welches in dem Bereich der Empfindlichkeit der Sperrschichtzelle von diesen Farbstoffen gleichmäßig absorbiert wird, sich also wie monochromatisches Licht verhält. Dies gelingt nicht für das CO-Hb und bei keinem Blutfarbstoff für das ultrarote Licht, da wir in diesen Fällen ein geeignetes Monochromatfilter nicht haben.

Abb. 1 zeigt auch Verdünnungskurven von nichthämolysiertem Blute (Schichtdicke 1,5 mm). Alle Kurven zeigen eine gebogene Form, auch durch Vorschalten eines starken Rotfilters werden sie nicht zu geraden

Linien. Zu dem Mischlichtfehler kommt hier eine Abweichung vom Beerschen Gesetz, die durch Streuung und Reflexion des Lichtes an den roten Blutkörperchen bedingt ist. In bezug auf das rote Licht entspricht dieser Befund dem von Kramer[1]. Die Verdünnungskurven des reduzierten Blutes entsprechen in allen Einzelheiten denen des sauerstoffgesättigten Blutes. Abb. 2 zeigt die Lichtdurchlässigkeit von Mischungen von hämo-

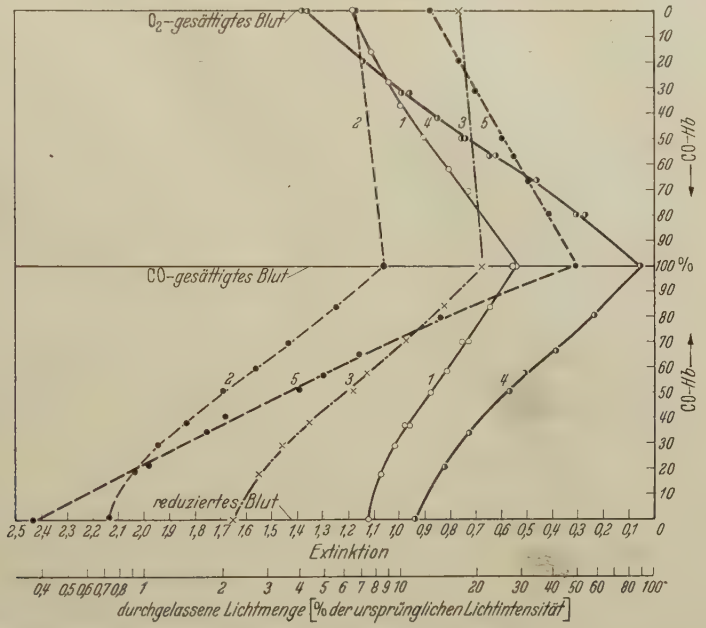


Abb. 2. Lichtabsorption von Mischungen von CO gesättigtem Blut mit O_2 gesättigtem und reduziertem Blut im roten und ultraroten Licht.

1. Ultrarotes Licht (mit und ohne Filter). } Nicht hämolysiertes Blut,
2. Rotes Licht ohne Filter. } Schichtdicke 1,5 mm.
3. Rotes Licht mit Rotfilter. }
4. Ultrarotes Licht (mit und ohne Filter). } Hämolysiertes Blut,
5. Rotes Licht mit Rotfilter. } Schichtdicke 10 mm.

lysiertem und nichthämolysiertem CO-gesättigtem Blute mit sauerstoffgesättigtem und reduziertem Blute. Nach dem Beer-Lambertschen Gesetz müßten auch diese Kurven im logarithmischen Maßstab gerade Linien sein. Die Abweichungen von einer linearen Beziehung sind bei diesen Kurven geringer als bei den Verdünnungskurven der einzelnen Blutfarbstoffe. Für Mischungen von Red-Hb und Oxy-Hb wurde im roten Lichte von Kramer[1] und Matthes[2] eine völlig lineare Beziehung gefunden, im ultraroten Lichte sind die Absorptionsunterschiede des reduzierten Hb und des Oxy-Hb sehr gering, wir fanden bei Mischungen auch im Ultrarot eine geradlinige Beziehung, allerdings ist die Meßgenauigkeit wegen des geringen Absorptionsunterschiedes keine sehr große.

Auch bei Mischungen von nichthämolysiertem CO-gesättigtem Blute mit reduziertem und sauerstoffgesättigtem Blute sehen wir deutliche Abweichungen von der durch das Beer-Lambertsche Gesetz geforderten linearen Beziehung, die sich auch durch Vorschalten eines Rotfilters nicht ausgleichen lassen. Für Mischungen von sauerstoffgesättigtem Blute mit reduziertem Blute fanden wir dagegen entsprechend den früheren Befunden von Kramer[1] und Matthes[2] eine lineare Beziehung, und zwar

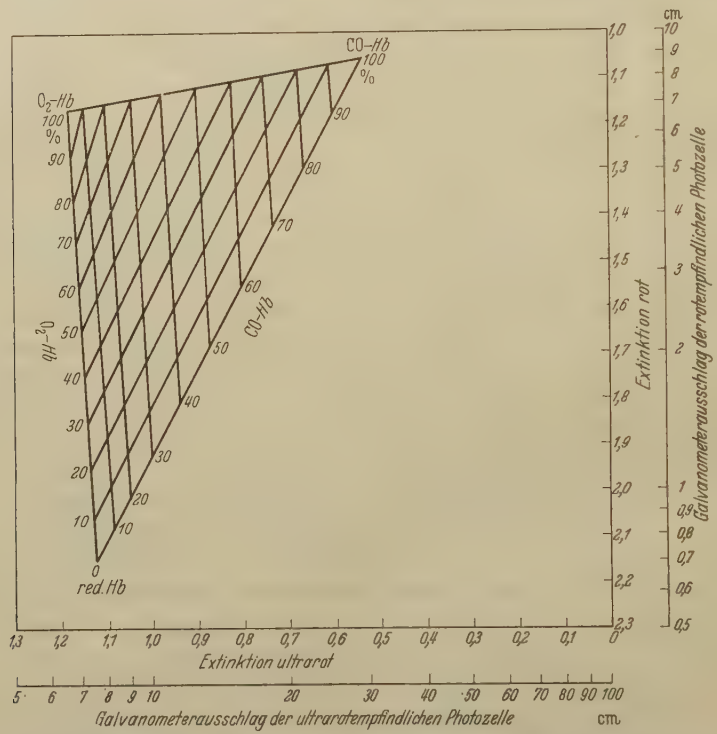


Abb. 3. Linienkarte, zeigend die Beziehung zwischen dem Galvanometerausschlag der ultrarot- und rotempfindlichen Photozelle und dem prozentualen Gehalt des Blutes an O_2-Hb und CO-Hb. Der Red-Hb-Gehalt ergibt sich aus der Gleichung: Red-Hb = 100 — (CO-Hb + O_2-Hb).

sowohl im roten, als auch im ultraroten Lichte (im ultraroten Lichte ist auch hierbei die geringe Meßgenauigkeit infolge des geringen Absorptionsunterschiedes zu berücksichtigen.

Die oben auf Grund des Beer-Lambertschen Gesetzes für Hämoglobinlösungen und monochromatisches Licht geltenden mathematischen Beziehungen sind also für eine Analyse von Durchleuchtungskurven von nichthämolysiertem Blute mit dem von uns verwandten Lichte nicht brauchbar. Wir müssen uns zur Eichung derartiger Kurven empirisch gewonnener Eichkurven bedienen. Als solche dienen die in Abb. 2 wiedergegebenen Kurven, sie werden ergänzt durch die linearen Kurven, die den

Logarithmus der Lichtdurchlässigkeit von O_2-Hb-Red-Hb-Mischungen zur O_2-Hb-Konzentration in Beziehung setzen. (Diese Kurve ist in Abb. 2 nicht wiedergegeben, sie kann aber bei bekannter Extinktion des sauerstoffgesättigten und des reduzierten Blutes leicht konstruiert werden.) Die Kurven der Abb. 2 ergänzt durch die Absorptionskurven von Mischungen von sauerstoffgesättigtem Blute mit reduziertem Blute geben uns jeweils eine Beziehung zwischen der Lichtdurchlässigkeit des Blutes in Rot und Ultrarot und dem prozentualen Anteil von je zwei Blutfarbstoffen für den Spezialfall, daß die Konzentration des dritten gleich 0 ist. Wir übertragen diese Kurven in ein Diagramm (Abb. 3), in dem die Abszisse die Lichtdurchlässigkeit des Blutes im Ultrarot, die Ordinate die Lichtdurchlässigkeit des Blutes im Rot, gemessen am Galvanometerausschlag der rot- bzw. ultrarotempfindlichen Photozelle, beides in logarithmischem Maßstab, darstellt. In diesem Diagramm stellt der sauerstoffgesättigte, kohlenoxydgesättigte und reduzierte Zustand des Blutes jeweils den Eckpunkt des „Eichdreiecks" dar, die Verbindungslinien zwischen je zwei dieser Punkte entsprechen den in Abb. 2 wiedergegebenen Kurven, sie stellen Konturlinien dar, die den Zustand charakterisieren, daß die Konzentration des jeweils dritten Blutfarbstoffs Null ist. Form und Einteilung dieser Konturlinien ergibt sich aus den Kurven der Abb. 2, die Abweichung der Form dieser Linien von der geraden Verbindungslinie zwischen den Eckpunkten ist sehr gering. Es werden nun homologe Punkte von je zwei zusammenstoßenden Seiten des Dreiecks miteinander verbunden, z. B. die 10, 20, 30 usw. % CO-Hb entsprechenden Punkte auf den Linien, die den Punkt CO-Hb mit O_2-Hb und Red-Hb verbinden. Diese Linien sind dann Konturlinien, die 10, 20, 30 usw. % CO-Hb entsprechen.

Entsprechend können die Konturlinien für 10, 20, 30 usw. % Oxy-Hb oder Red-Hb gezogen werden. Man kann nun für jeden Punkt innerhalb des Eichdreiecks (der zwei zugeordneten Werten der Lichtdurchlässigkeit in Rot und Ultrarot entspricht) ablesen, wieviel % Oxy-Hb, CO-Hb und Red-Hb in der Blutprobe vorhanden ist.

Hat man im strömenden Blute, in dem sich der prozentuale Anteil der drei Blutfarbstoffe am Gesamthämoglobin dauernd ändert, der Gesamtfarbstoffgehalt aber gleichbleibt, die Lichtdurchlässigkeit des Blutes in beiden Spektralbezirken fortlaufend aufgeschrieben, so läßt sich an Hand einer der Abb. 3 entsprechenden zweidimensionalen Linienkarte nachträglich sagen, wieviel % von jedem der drei Blutfarbstoffe in jedem Zeitmoment vorhanden war. Damit ist es möglich, nebeneinander im strömenden Blute O_2-Hb, Red-Hb und CO-Hb fortlaufend und quantitativ zu registrieren. Voraussetzung zur quantitativen Auswertung der Kurven ist natürlich, daß die Daten, die zur Konstruktion einer Abb. 3 entsprechenden Linienkarte notwendig sind, gesammelt werden. Notwendig ist in erster Linie die Messung der Lichtextinktion des Blutes des Versuchstieres, nachdem aller Blutfarbstoff einmal in den oxydierten, reduzierten

und CO-gesättigten Zustand überführt worden ist, ferner müssen einzelne Daten über das Verhalten der Lichtdurchlässigkeit von Mischungen von O_2-Hb und Red-Hb mit CO-Hb gesammelt werden. Erfahrungen über die Form der in Abb. 2 dargestellten Kurven ermöglichen es, die Zahl der zur Konstruktion solcher Kurven verwendeten Einzelmessungen zu vermindern.

Zusammenfassung.

Es wurde die Lichtdurchlässigkeit von kohlenoxydgesättigtem Blute, oxydiertem und reduziertem Blute sowie von entsprechenden Hämoglobinlösungen im roten und ultraroten Lichte mit Hilfe von Photozellen untersucht. Die gefundenen Unterschiede in der Lichtdurchlässigkeit stellen die Grundlage dar für eine Methode zur fortlaufenden Registrierung von Kohlenoxyd-Hb neben reduziertem Hb und Oxy-Hb, über die in einer folgenden Arbeit berichtet werden wird. Es wurde die Lichtdurchlässigkeit von Mischungen von je zwei und allen drei Farbkomponenten untersucht und eine Methode zur quantitativen Bestimmung aller drei Farbstoffe nebeneinander auf photoelektrischem Wege angegeben. Auf Unterschiede in der Lichtdurchlässigkeit des Blutes verschiedener Tierarten, besonders im ultraroten Spektralgebiet, wird hingewiesen.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Leipzig.
(Direktor: Prof Dr. Bürger.)

Fortlaufende Registrierung der Lichtabsorption des Blutes in zwei verschiedenen Spektralbezirken.

Von
K. Matthes und **F. Gross.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. September 1938.)

In der vorstehenden Arbeit wurden Beobachtungen über die Lichtdurchlässigkeit des Blutes im roten und ultraroten Spektralbezirk beschrieben.

Im roten Lichte ist beim Hunde das reduzierte Blut sehr viel undurchsichtiger als das sauerstoffgesättigte. Im ultraroten Lichte ist das reduzierte Blut etwas durchsichtiger als das oxydierte. Sowohl rotes als auch ultrarotes Licht dringen durch eine 1,5—2 mm dicke Schicht nativen Blutes leicht durch. Damit ist die Möglichkeit gegeben, im strömenden Blute mit der Photozelle fortlaufend die Lichtabsorption des Blutes gleichzeitig in zwei verschiedenen Spektralbezirken aufzuzeichnen.

Dies kann ausgenutzt werden:

1. Für die Registrierung der Sauerstoffsättigung des Blutes, dabei ermöglicht das Mitregistrieren der Lichtabsorption des Blutes in einem zweiten Spektralbezirk die Erkennung rasch verlaufender Änderungen des Gesamthämoglobingehaltes des Blutes neben Änderungen der Sauerstoffsättigung.

2. Für die Registrierung von CO-Hb neben O_2-Hb und Red-Hb.

K. Matthes[1] beschrieb 1934 eine Methode zur fortlaufenden Registrierung der Lichtabsorption des Blutes in zwei verschiedenen Spektralbezirken.

Auch damals sollten rasche Änderungen des Gesamt-Hb neben Änderungen der Sauerstoffsättigung erkannt werden. Die damals neben der auch heute verwandten Registrierung im roten Teil des Spektrums vorgeschlagene Messung der Lichtabsorption im grünen Lichte (isolierte Linien 546 und 577 des Quecksilberdampfspektrums) erforderte wegen der großen Extinktion des Vollblutes in diesem Spektralbezirk und wegen der relativen Unempfindlichkeit der verwandten Photozellen in diesem Teil des Spektrums sehr dünne Schichtdicken des strömenden Blutes. Dies erschwerte die Registrierung erheblich und führte Fehlerquellen ein, die jetzt bei der Registrierung im ultraroten Licht leicht vermieden werden können.

Strenggenommen, ist es nicht berechtigt, jede Änderung der Lichtdurchlässigkeit des Blutes, die nicht Folge einer Änderung der Sauerstoffsättigung ist, einfach auf eine Änderung des Gesamthämoglobins zu beziehen. Das Gesamt-Hb kann sich ändern durch Vermehrung oder Ver-

[1] Matthes, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **176**, 683 (1934).

minderung der Zahl der roten Blutzellen in der Volumeneinheit, es kann aber auch bei gleicher Zellzahl die Konzentration des Hb in den Zellen verschieden sein, auch kann die Größe und Form der Blutzellen sich ändern und so eine verschiedene Lichtdurchlässigkeit des Blutes bedingen. Die Konzentration des Hb in den Zellen kann willkürlich nicht variiert werden, sie kann sich aber auch im strömenden Blute nur ändern bei gleichzeitiger Änderung des Zellvolumens. Untersuchungen über das Verhältnis der Extinktion von hämolysiertem und nichthämolysiertem Blute bei gleichem Hb-Gehalt, die Auskunft über den Einfluß verschiedener Hb-Konzentrationen in den Zellen geben könnten, liegen noch nicht in genügender Anzahl vor. Gleichzeitig mit dem Zellvolumen ändert sich die Hb-Konzentration in den Zellen z. B. bei verschiedenem Blut-p_H. Es wurde deshalb der Einfluß verschiedener p_H auf die Lichtdurchlässigkeit des sauerstoffgesättigten Blutes untersucht. Das Blut wurde mit Sauerstoff, dem wechselnde Kohlensäuremengen beigemischt waren, äquilibriert. Wir fanden keine meßbare Änderung der Lichtdurchlässigkeit des Blutes mit dem Blut-p_H. Da größere Formänderungen der Erythrocyten, wie die so im Experiment erzeugten (das p_H wurde von 7,0—7,5 variiert), wohl im strömenden Blute spontan nicht vorkommen, so sind wir wohl doch berechtigt, Änderungen der Lichtdurchlässigkeit des Blutes einfach auf Gesamt-Hb-Änderungen zu beziehen. Wir stellen uns dabei vor, daß sich die Zellzahl des Blutes ändert.

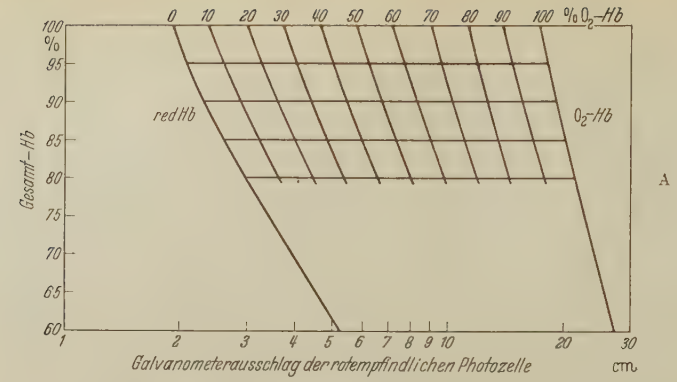
Methodik.

Versuchstiere. Hunde in Pernocton-Morphinnarkose. Das Blut wurde durch 7 mg pro kg Liquoid-Roche (langsam während einer halben Stunde infundiert) ungerinnbar gemacht. Registriert wurde die Atmung (Hochreinscher Pneumotachograph) und der Blutdruck (Broemsersches Glasplattenmanometer). Bei der Registrierung der Lichtdurchlässigkeit des arteriellen Blutes allein strömte das arterielle Blut mit der Kraft des Arteriendruckes durch Gummischläuche und die Durchleuchtungskammer in eine Vena jugularis. Bei der Registrierung der Lichtdurchlässigkeit des venösen Blutes im rechten Vorhof wurde die Blutbewegung durch eine Rotationspumpe bewirkt, bei der zwei Gummischläuche, in denen das Blut strömt, durch rotierende Metallrollen in der Richtung des Blutstromes ausgedrückt wurden. Das Blut wurde durch einen von der Vena jugularis in den rechten Vorhof eingeführten Katheder in die Durchleuchtungskammer gesaugt und in eine periphere Vene injiziert. Wenn die Pumpe verwendet wurde, wurde auch die Bewegung des arteriellen Blutes durch die Pumpe bewirkt, das Blut floß aus der Art. carotis durch die Kammer und die Pumpe in den peripheren Teil der Arteria femoralis, in deren zentralem Abschnitt der Blutdruck registriert wurde. Die Pumpe hatte eine Förderleistung von 80—140 ccm pro Minute. Die Durchleuchtungskammern bestanden aus zwei Platten von 1 cm starkem geschliffenen

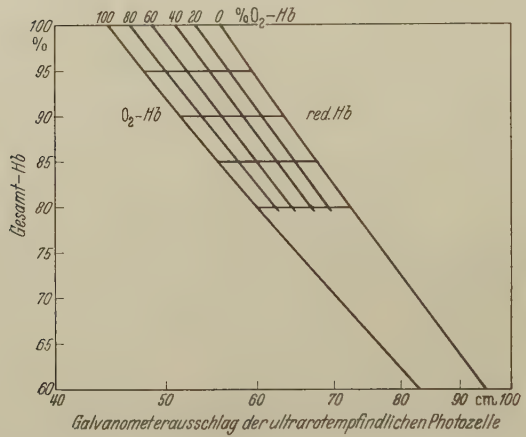
Glas, zwischen denen sich eine Lage von 1,5 mm starkem Bleiblech befand, das einen geeigneten Ausschnitt für die Strömung des Blutes zwischen den Glasplatten hatte. Zufuhr und Abfluß des Blutes erfolgte durch zwei Bohrungen in der vorderen Glasplatte. Die Glasplatten wurden durch zwei Holzplatten mit zentralem Ausschnitt und einigen Schraubzwingen blutdicht zusammengepreßt. Die Durchleuchtung des zwischen den Glasplatten in 1,5 mm dicker Schicht strömenden Blutes erfolgte durch eine Osram-Soffittenlampe. Auf der anderen Seite der Kammer waren dicht nebeneinander die beiden Photozellen angebracht, eine gasgefüllte Zelle der Firma Pressler, Leipzig, mit Phonopreßschicht (Form D 150, Type G Sp 1 E) mit vorgesetztem Agfa-Ultrarotfilter 83 und einer Sperrschichtphotozelle von Dr. Br. Lange, Berlin. Die Photoströme wurden ohne Verstärkung mit schnellschwingenden Spiegelgalvanometern von Ruhstrat registriert, Vorspannung der Ultrarotzelle 50 Volt mit 0,1 Megohm Vorschaltwiderstand. Die Empfindlichkeit der registrierenden Galvanometer konnte durch je einen als Shunt geschalteten Stöpselrheostaten von 5000 Ohm geändert werden.

Registriert man die Lichtdurchlässigkeit des Blutes im roten und ultraroten Lichte zugleich, so sieht man bei Änderungen der Sauerstoffsättigung Ausschläge von entgegengesetzter Richtung in den beiden Photoströmen auftreten. Denn das reduzierte Hämoglobin ist im ultraroten Lichte durchsichtiger als das Oxy-Hb, im roten Lichte jedoch sehr viel undurchsichtiger. Da der Unterschied zwischen den Extinktionen des sauerstoffgesättigten und reduzierten Blutes im roten Lichte sehr viel größer ist als im ultraroten (Matthes und Gross[2]), während die Extinktion des sauerstoffgesättigten Blutes im roten und ultraroten Lichte fast gleich ist, so wird bei gleicher primärer Lichtintensität (beide Photozellen werden von der gleichen Lichtquelle beleuchtet) und gleichempfindlicher Registrierung der Photoströme die Rotlichtkurve Schwankungen der arteriellen Sauerstoffsättigung sehr viel deutlicher wiedergeben als die Ultrarotkurve, während Schwankungen des Gesamthämoglobins von beiden gleich wiedergegeben werden. Will man bei einer bestimmten Änderung der arteriellen Sauerstoffsättigung in beiden Durchleuchtungskurven ungefähr gleichgroße Ausschläge (nach entgegengesetzten Richtungen) haben, so muß die Ultrarotlichtkurve sehr viel empfindlicher geschrieben werden als die Rotlichtkurve. Dies läßt sich leicht durch entsprechende Benutzung des Galvanometershunts erreichen. Bei annähernd gleicher Empfindlichkeit beider Kurven für Änderungen der Sauerstoffsättigung spiegeln sich dann naturgemäß die Änderungen des Gesamthämoglobins deutlicher in der Ultrarotkurve als in der Rotlichtkurve. In unseren Kurven bewirken Änderungen der arteriellen Sauerstoffsättigung fast gleichgroße Ausschläge nach entgegengesetzten Richtungen, Änderungen des Gesamthämoglobins bewirken

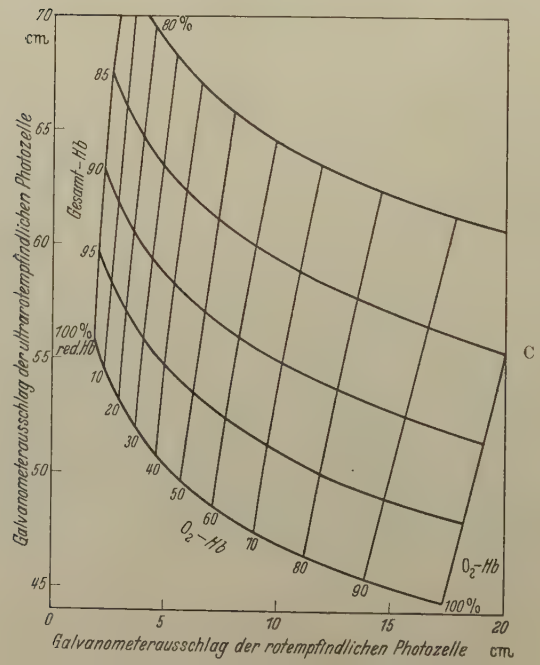
[2] Matthes u. Gross: (vorstehende Arbeit).


0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 % O_2-Hb
100 % 95 90 85 80 75 70 65 60
Gesamt-Hb
red Hb
O_2-Hb
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 20 30
Galvanometerausschlag der rotempfindlichen Photozelle
cm

A


100 80 60 40 20 0 % O_2-Hb
100 % 95 90 85 80 75 70 65 60
Gesamt-Hb
O_2-Hb
red. Hb
40 50 60 70 80 90 cm 100
Galvanometerausschlag der ultrarotempfindlichen Photozelle

B


70 cm 65 60 55 50 45
Galvanometerausschlag der ultrarotempfindlichen Photozelle
Gesamt-Hb
80 %
85
90
95
100 % red. Hb
10
20
30
40
50
60
70
80
90
O_2-Hb
100 %
O_2-Hb
0 5 10 15 20
Galvanometerausschlag der rotempfindlichen Photozelle
cm

C

Ausschläge beider Kurven in gleicher Richtung, die, wie gesagt, in der Ultrarotkurve viel deutlicher sind als in der Rotlichtkurve. Je besser das Blut arterialisiert ist, desto geringer wird die Empfindlichkeit der ultrarotempfindlichen Photozelle für Änderungen der Sauerstoffsättigung gegenüber der rotempfindlichen. Daher bewirkt eine Zunahme der Sauerstoffsättigung einen relativ größeren Ausschlag der Rotzelle, eine Abnahme einen relativ größeren Ausschlag der Ultrarotzelle. Diese qualitativen Angaben sollen das Lesen der Kurven erleichtern, da es nicht möglich ist, einfach Eichskalen an den Rand der Kurven zu zeichnen. Da nämlich Lage und Form der Eichskalen für Gesamt-Hb und Sauerstoffsättigung stets von beiden Größen abhängig sind, so läßt sich die Eichung nur mit Hilfe einer zweidimensionalen Linienkarte durchführen, nicht aber in Form einer einfachen Eichskala auf die Kurve zeichnen.

Eine solche Linienkarte kann, wenn nötig, auf folgende Weise gewonnen werden: Nach Abschluß des Versuchs werden die Durchströmungskammern mit sauerstoff- gesättigtem und reduziertem (Natriumhydrosulfit) Blute des Versuchstieres gefüllt und die Lichtabsorption in beiden Spektralbezirken gemessen. Dann wird reduziertes und oxyd. Blut zur Hälfte mit physiol. Kochsalzlösung verdünnt und ebenfalls in die Kammern gefüllt und gemessen. Bei Kenntnis der Form derartiger Kurven kann man aus diesen beiden Werten mit genügender Genauigkeit Verdünnungskurven für oxydiertes und reduziertes Blut ermitteln (vgl. Matthes und Gross[2], Abb. 2). Diese Kurven werden auf Logarithmenpapier gezeichnet (Abb. 1 A für rotes Licht, Abb. 1 B für ultrarotes Licht), die den Abszissen parallelen Verbindungslinien zwischen den Punkten gleichen Hb-Gehaltes auf der Kurve des oxydierten und reduzierten Blutes stellen den Übergang von dem oxydierten in den reduzierten Zustand des Blutes dar. Sie können, da zwischen Sauerstoffsättigung und dem Logarithmus des Galvanometerausschlages Proportionalität besteht, einfach zu gleichen Teilen nach der Sauerstoffsättigung graduiert werden. Man erhält so für rotes und ultrarotes Licht eine Beziehung zwischen Galvanometerausschlag einerseits, Gesamt-Hb-Gehalt und Sauerstoffsättigung andererseits. Man kann nun beide Zeichnungen zu einer zusammenziehen, in der der Galvanometerausschlag der ultrarotempfindlichen Photozelle als Ordinate, der der rotempfindlichen als Abszisse verwandt wird. Gesamt-Hb und Sauerstoffsättigung erscheinen in dieser Linienkarte als Konturlinien. Aus Gründen der Anschaulichkeit ist in Abb. 1b der logarithmische Maßstab zugunsten des linearen verlassen. Die Linienkarte ermöglicht es, bei gegebenem Ausschlag beider Photozellen Gesamt-Hb und Sauerstoffsättigung abzulesen und so die registrierten Kurven zu eichen. Die oben erwähnten Überlegungen über die Empfindlichkeit der roten und ultraroten Photozelle gegenüber Änderungen der Sauerstoffsättigung und des Gesamt-Hb erhalten durch diese Linienkarte unmittelbare Anschaulichkeit.

Abb. 2 zeigt das Verhalten der Lichtdurchlässigkeit des arteriellen Blutes im Rot und Ultrarot nach i. v. Injektion von 0,2 ccm Sympatol sowie bei Atmung eines Gemisches von nur 7 % O_2 und bei Sauerstoffatmung.

Man sieht sehr schön das gegensinnige Verhalten der Lichtdurchlässigkeit bei Änderungen der Sauerstoffsättigung (man vergleiche das Pneumotachogramm). Eine kleine Unstimmigkeit ergibt sich nach der Sympatolinjektion. Nach der durch die Sympatolapnoe bedingten großen gegen-

sinnigen Schwankung (Änderung der Sauerstoffsättigung) kommt es in der Rotlichtkurve zu einem erneuten anhaltenden, ziemlich beträchtlichen Absinken der Lichtdurchlässigkeit, die Ultrarotkurve zeigt an der gleichen Stelle zunächst einen Anstieg, dann aber, obwohl die Rotkurve weiter absinkt, ebenfalls ein Absinken der Lichtdurchlässigkeit. Erklärung:

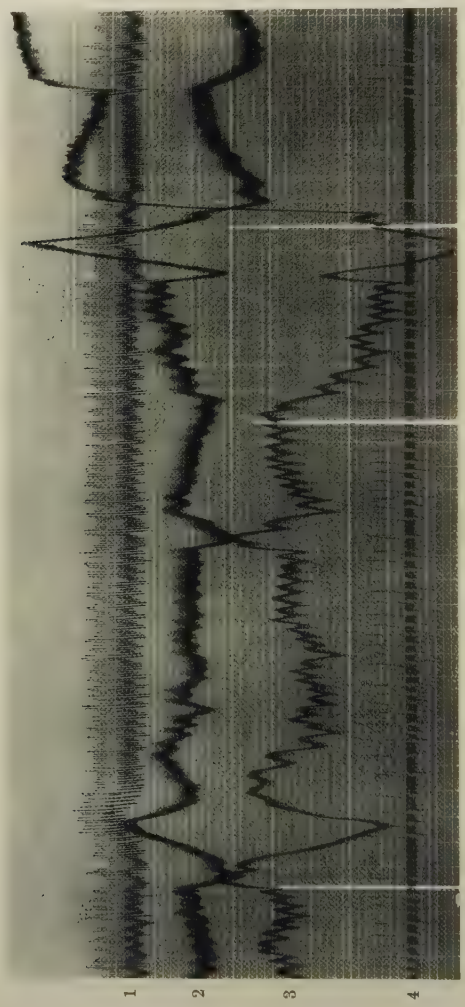


Abb. 2. 1. Femoralisdruck; 2. Ultrarot-Durchleuchtung Carotisblut; 3. Rot-Durchleuchtung Carotisblut; 4. Atmung. a Injektion von 0,2 ccm Sympatol; von b—c Atmung eines Gemisches mit 7% O_2; bei c O_2-Atmung.

Nach dem ersten Wiederanstieg der Sauerstoffsättigung nach der Apnoe kommt es wieder zu einem etwas länger dauernden Absinken der Sauerstoffsättigung, das sich in der gegen Änderungen des Gesamt-Hb relativ unempfindlichen Rotlichtkurve darstellt. Im Ultrarotlicht bewirkt dieses zuerst ebenfalls einen Anstieg der Lichtdurchlässigkeit, der aber bald

durch einen neuen Faktor, der kaum etwas anderes sein kann als eine geringe Zunahme des Gesamt-Hb infolge Depotblutausschüttung, in seiner Auswirkung gehemmt wird. Also Abnahme der Sauerstoffsättigung neben Zunahme des Gesamt-Hb.

In Abb. 3 sehen wir die Wirkung einer intravenösen Injektion von 0,1 mg Adrenalin. Während der Apnoe sehen wir in der arteriellen Rotlichtkurve den bekannten Abfall der arteriellen Sauerstoffsättigung; die Ultrarotlichtkurve des arteriellen Blutes zeigt zunächst eine dem Abfall der arteriellen Sauerstoffsättigung entsprechende Zunahme der Lichtdurchlässigkeit, dann aber, lange bevor die entsprechende Rotlichtkurve ihren tiefsten Punkt erreicht hat, beginnt auch die Ultrarotkurve abzusinken. Nach dem ersten Atemzug, wenn die Rotlichtkurve des arteriellen Blutes ansteigt, wird das Absinken der Ultrarotkurve sehr steil, so daß die Kurve aus dem Registrierbereich verschwindet, um erst 4 Minuten nach der Adrenalininjektion wieder aufzutauchen. Während dieser ganzen Zeit erreicht auch die arterielle Rotlichtkurve ihr Ausgangsniveau nicht

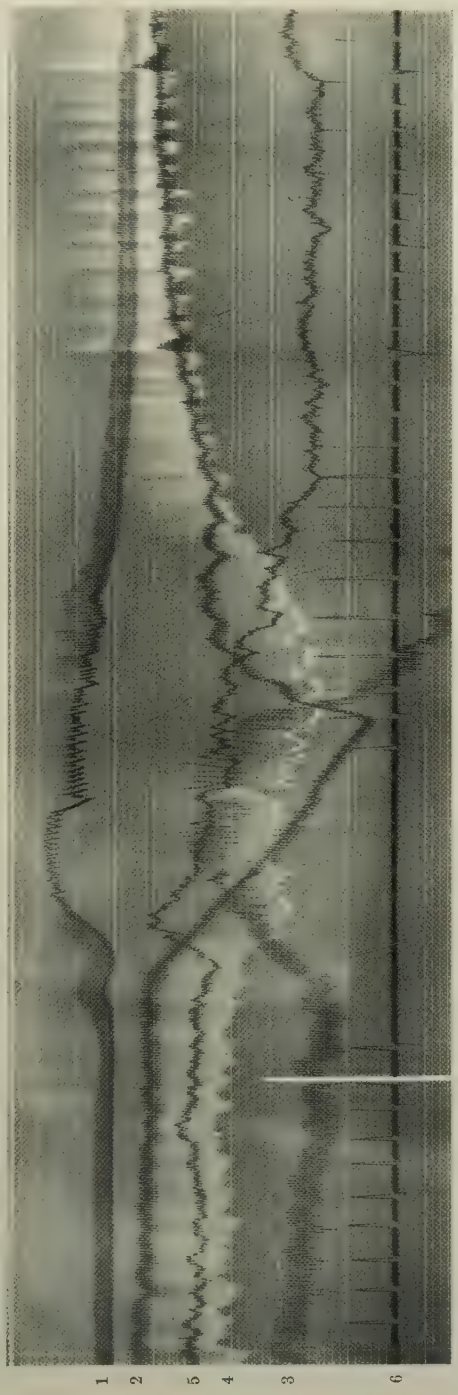


Abb. 3. 1. Blutdruck; 2. Rotlichtkurve; 3. Ultrarotlichtkurve des arteriellen Blutes; 4. Rotlicht-, 5. Ultrarotlichtkurve des venösen Blutes (rechter Vorhof); 6. Atmung. Bei Marke Injektion von 0,1 mg Adrenalin.

völlig wieder. Das Verhalten beider Kurven läßt sich leicht erklären durch eine vorübergehende Zunahme des Gesamt-Hb infolge von Ausschüttung zellreichen Depotblutes. Diese Erklärung findet ihre Bestätigung im Verhalten der Durchleuchtungskurven des Blutes aus dem rechten Vorhof. Kurz nach dem Beginn des Abfalls der arteriellen Sauerstoffsättigung (viel zu früh, als um eine Folge des Abfalls der arteriellen Sauerstoffsättigung annehmen zu können) streben die Ultrarot- und Rotlichtkurven des Vorhofblutes auseinander, entsprechend einer Abnahme der Sauerstoffsättigung des Vorhofblutes. Bald darauf aber beginnen beide parallel abzusinken, entsprechend einer Zunahme des Gesamt-Hb. Fast 2 Minuten nach der Adrenalininjektion, als der Blutdruck schon zur Norm abgefallen ist und beginnt tiefer zu sinken, kreuzen sich die venösen Durchleuchtungskurven wieder, entsprechend einer anhaltenden Zunahme der Sauerstoffsättigung des venösen Blutes. Also unmittelbar nach der Adrenalininjektion Abnahme der Sauerstoffsättigung und bald darauf Zunahme des Gesamthämoglobins im venösen Blute, später Zunahme der venösen Sauerstoffsättigung über den Ausgangswert. Im arteriellen Blute sehen wir ebenfalls die Zunahme des Gesamt-Hb, im übrigen folgt die Sauerstoffsättigung der Atmung, zeigt also während der Apnoe einen tiefen Abfall. Aus den zu diesem Versuch gehörenden Eichkurven läßt sich entnehmen, daß die Zunahme des Gesamt-Hb bei der Adrenalininjektion $^1/_2$ Vol.-% betragen hat. Die abgebildete Adrenalininjektion war die erste bei dem Versuchstier, spätere Adrenalininjektionen zeigten bei diesem und anderen Versuchen die Ausschwemmung von Depotblut nach Adrenalin nicht mehr so deutlich. Injiziert man Adrenalin während Sauerstoffatmung, so treten die für Adrenalin typischen Änderungen der arteriellen Sauerstoffsättigung nicht auf, da der Sauerstoffvorrat in der Lunge ausreicht, um auch während der Apnoe die arterielle Sauerstoffsättigung konstant zu halten. Man sieht dann im arteriellen Blute nur die Zunahme des Gesamthämoglobins. Die durch eine Entleerung der Blutdepots bewirkte Änderung der Lichtdurchlässigkeit des Blutes (Zunahme des Hb-Gehaltes und Abnahme der Sauerstoffsättigung im Vorhofblut, Abnahme des Hb-Gehaltes bei gleichbleibender Sauerstoffsättigung im arteriellen Blute) zeigt sich in unseren Versuchen im venösen Blute um 10—15 Sekunden früher als im arteriellen Blute.

Atmung von reinem Stickstoff bewirkt ein sofortiges Absinken der arteriellen Sauerstoffsättigung, das sich in Rot- und Ultrarotlichtkurve in gleicher Weise ausprägt, bei etwas längerer Dauer der N_2-Atmung (mehr als 1 Minute) kommt es ebenfalls zu einer geringen Abnahme der Lichtdurchlässigkeit des Blutes in beiden Spektralbezirken, entsprechend einer Zunahme des Gesamt-Hb infolge Ausschüttung hämoglobinreichen Depotblutes. Im Blute des rechten Vorhofs erfolgt die Abnahme der Sauerstoffsättigung nach N_2-Atmung langsamer als im arteriellen Blute. So wurde bei einer 23 Sekunden dauernden N_2-Atmung (5 Atemzüge) der tiefste Wert der O_2-Sättigung des Venenblutes 38 Sekunden nach Beginn des

Abfalls der arteriellen O_2-Sättigung erreicht, während die arterielle O_2-Sättigung nach 23 Sekunden am tiefsten war. So folgt die Sauerstoffsättigung des Vorhofsblutes den größeren Schwankungen der arteriellen Sauerstoffsättigung mit einer Verspätung von durchschnittlich 15 Sekunden.

Bei langsamer Atmung sehen wir häufig regelmäßige respiratorische Schwankungen der Sauerstoffsättigung des Blutes im rechten Vorhof. Jedem tiefen Atemzug folgt ein Abfall der venösen Sauerstoffsättigung, erkennbar an den gegensinnigen Schwankungen der Rot- und Ultrarotlichtkurve. Man hat den Eindruck, als presse jeder Atemzug sauerstoffarmes Blut, wahrscheinlich aus der Leber zum Herzen. Die respiratorischen Schwankungen der Sauerstoffsättigung des Blutes im rechten Vorhof sind also von entgegengesetzter Richtung wie etwa gleichzeitig zu beobachtende Schwankungen der arteriellen Sauerstoffsättigung.

Strophanthin wurde in Dosen von 0,05—0,5 mg in mehreren Experimenten intravenös injiziert; wir konnten nie eine Änderung der Sauerstoffsättigung oder des Gesamthämoglobins im arteriellen Blute und im Blute des rechten Vorhofes beobachten. Die Beobachtung von Gotsch[3], daß Strophanthin die periphere Ausnutzung des Sauerstoffs verbessere, konnte also unter den Bedingungen unserer Versuche nicht reproduziert werden.

Über weitere pharmakologische Untersuchungen wird in einer späteren Arbeit berichtet werden.

Schon die wenigen angeführten Beispiele genügen, um zu zeigen, daß die Registrierung der Lichtdurchlässigkeit des Blutes in zwei verschiedenen Spektralbezirken einen wesentlichen Fortschritt gegenüber der Registrierung nur im roten Lichte darstellt. Besonders bei der Registrierung im venösen Blute besteht sonst keine Möglichkeit, Schwankungen der Sauerstoffsättigung von Schwankungen des Gesamthämoglobins zu unterscheiden, da eine Kontrolle des Gesamt-Hb durch Sauerstoffatmung nur im arteriellen Blute möglich ist. So würde der in Abb. 3 dargestellte Ablauf zweifellos falsch gedeutet worden sein, wenn nur im roten Lichte registriert worden wäre. Die Registrierung der Lichtdurchlässigkeit in zwei verschiedenen Spektralbezirken wird sich auch auf unblutige Weise durchführen lassen, indem ein Element des Kramerschen Sauerstoffschreibers[4] mit zwei Photozellen statt mit nur einer armiert wird.

Zusammenfassung.

Es wird eine Methode beschrieben, die es gestattet, die Lichtdurchlässigkeit des strömenden Blutes gleichzeitig in zwei verschiedenen Spektral-

[3] Klein u. Gotsch: Z. exper. Med. **101**, 219 (1937). — [4] Kramer, K.: Z. Biol. **96**, 61 (1935).

bezirken (rot und ultrarot) fortlaufend aufzuzeichnen. Dadurch ist es möglich, rasch verlaufende Änderungen des Gesamthämoglobins, wie sie z. B. bei plötzlicher Ausschüttung der Blutdepots nach Adrenalin vorkommen, neben Änderungen der Sauerstoffsättigung darzustellen. Änderungen des Gesamthämoglobins bewirken Ausschläge der beiden Photozellen in gleicher Richtung, Änderungen der Sauerstoffsättigung machen Ausschläge in entgegengesetzter Richtung. Eine Methode zur Eichung dieser Kurven wird beschrieben. Die Registrierung wurde gleichzeitig im arteriellen Blute und im Blute des rechten Vorhofs durchgeführt. Es ist dadurch die Möglichkeit gegeben, die Sauerstoffausnutzung des Körpers fortlaufend darzustellen.

Aus der Medizinischen Universitäts-Klinik Leipzig.
(Direktor: Prof. Bürger.)

Fortlaufende Registrierung von Kohlenoxydhämoglobin im strömenden Blute.

Von

K. Matthes und F. Gross.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. September 1938.)

Die Aufzeichnung der Lichtabsorption des strömenden Blutes in zwei verschiedenen Spektralbezirken (rot und ultrarot) Matthes und Gross[2] ermöglicht es auch, den Gehalt des Blutes an Kohlenoxydhämoglobin fortlaufend zu registrieren. Die bei unseren Tierexperimenten (Hundeversuchen) verwandte Methodik stimmt in allen Einzelheiten mit der in der vorigen Arbeit geschilderten Methodik überein. Es wurde die Lichtabsorption des arteriellen Blutes und des Blutes im rechten Vorhof im roten und ultraroten Lichte fortlaufend aufgezeichnet. Die Eichung der Kurven erfolgt nach der von Matthes und Gross[1] angegebenen Methode. Am Ende jedes Experimentes wurden die zur fortlaufenden Registrierung benutzten Durchströmungskammern mit sauerstoffgesättigtem, kohlenoxydgesättigtem und reduziertem Blut gefüllt und die Extinktion des so in einen einheitlichen Zustand überführten Blutes bestimmt. Es wurde dann eine der Abb. 5 der Arbeit von Matthes und Gross[1] entsprechende Figur konstruiert, die es ermöglicht, die vorher während des Versuches registrierten Kurven zu eichen.

Im ultraroten Lichte ist die Lichtabsorption des kohlenoxydgesättigten Blutes sehr viel kleiner als die des sauerstoffgesättigten und des reduzierten Blutes. Der Unterschied in der Lichtabsorption von Oxy-Hb und Red-Hb ist sehr gering gegenüber dem zwischen CO-Hb einerseits, Oxy-Hb und Red-Hb andererseits. Im roten Lichte dagegen ist der Unterschied zwischen der Lichtabsorption von CO-Hb und O_2-Hb klein gegenüber dem zwischen Red-Hb und den beiden anderen Blutfarbstoffen. Kohlenoxyd-Hb ist auch im roten Lichte am durchsichtigsten. (Matthes und Gross[1]). Wegen des großen Unterschiedes in der Durchsichtigkeit des kohlenoxydgesättigten Blutes und des sauerstoffgesättigten bzw. reduzierten Blutes im Ultrarot können wir uns im Ultrarot, wenn es auf die Registrierung von Kohlenoxyd-Hb ankommt, mit einer viel unempfindlicheren Registrierung begnügen als in der vorigen Arbeit, wo es auf die Erfassung des kleinen

[1] Matthes, K., u. F. Gross: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 369 (1938). — [2] Matthes, K., u. F. Gross: Ebenda **191**, 381 (1938).

Unterschiedes zwischen Oxy-Hb und Red-Hb im ultraroten Lichte ankam. In den in dieser Arbeit wiedergegebenen Kurven sind daher (wegen der geringeren Empfindlichkeit der Registrierung) die Unterschiede zwischen reduziertem und sauerstoffgesättigtem Blute im Ultrarot sehr viel weniger deutlich als in den in der vorigen Arbeit wiedergegebenen Beispielen. Im roten Lichte wurden unsere Kurven mit nur wenig geringerer Empfindlichkeit geschrieben als die entsprechenden der vorigen Arbeit. Die am Ende des Versuchs auf die geschilderte Weise aufgenommenen Eichkurven gelten natürlich nur unter der Voraussetzung, daß die Konzentration des Gesamthämoglobins sich während des Versuchs nicht geändert hat. Es besteht im Gegensatz zu der in der vorigen Arbeit beschriebenen Anordnung keine Möglichkeit, die Änderungen des Gesamthämoglobins fortlaufend zu kontrollieren, wenn einmal Kohlenoxyd geatmet worden ist. Dazu wäre, wenn man es für notwendig hält, eine Registrierung in einem dritten Spektralbezirk nötig. Der hier gemachte Einwand ist aber insofern ziemlich bedeutungslos, als die Versuche mit Kohlenoxydatmung stets unmittelbar nach Entnahme des Blutes, das nachher bei der Eichung verwandt wurde, gemacht wurden.

Abb. 1. 1. Blutdruck; 2. Atmung; 3. Arterielles Blut, Rotlicht; 4. Arterielles Blut, Ultrarotlicht; 5. Blut des unteren Vorhofes, Rotlicht; 6. Blut des rechten Vorhofes, Ultrarotlicht. Zwischen Marken Atmung von Luft mit 2% CO.

Abb. 1 zeigt das Verhalten der Lichtdurchlässigkeit des arteriellen Blutes und des Blutes im rechten Vorhof bei der Atmung von 2% Kohlenoxyd. Man sieht, daß sofort nach Umschaltung der Atmung auf das Kohlenoxyd die Lichtdurchlässigkeit des arteriellen Blutes im ultraroten, weniger auch im roten Lichte stetig zuzunehmen beginnt. Diese, das Ansteigen der Konzentration des Kohlenoxyd-Hb im Blute zeigende Zunahme der Durchsichtigkeit würde bei längerer Dauer der Einatmung von 2% CO andauern, bis das Blut zu einem sehr hohen Prozentsatz mit Kohlenoxyd gesättigt ist. Schaltet man die Atmung des Versuchstieres von der Kohlenoxydmischung wieder auf Luft oder Sauerstoff um, so nimmt die Lichtdurchlässigkeit des arteriellen Blutes schnell ab, um sich bald auf ein konstantes Niveau einzustellen, das stets merklich höher liegt, als der Lichtdurchlässigkeit des Blutes vor der Kohlenoxydatmung entsprach. Die initiale Abnahme der Kohlenoxydsättigung des arteriellen Blutes nach Umschalten von dem CO-Gemisch auf Luft ist um so ausgesprochener, in je kürzerer Zeit ein bestimmter Prozentgehalt von CO im Blute erreicht worden ist, d. h. je größer die CO-Konzentration in der Einatmungsluft war. Sie ist einfach ein Ausdruck der noch nicht gleichmäßigen Verteilung des CO-Hb im Körper, das arterielle Blut enthält noch sehr viel mehr CO-Hb als das zur Lunge strömende Venenblut, infolgedessen sinkt nach Absetzen der CO-Atmung die Konzentration des CO-Hb im arteriellen Blute ab. In Abb. 1 sehen wir, wie das Blut im rechten Vorhof sich sehr viel langsamer mit Kohlenoxyd sättigt wie das arterielle Blut, dafür ist aber auch die Abnahme der CO-Sättigung im unmittelbaren Anschluß an das Absetzen der CO-Atmung sehr viel weniger ausgeprägt. Erfolgt die Sättigung des Blutes mit Kohlenoxyd sehr langsam durch langdauerndes Einatmen sehr geringer Konzentrationen, so steigt der Kohlenoxydgehalt des arteriellen und venösen Blutes fast parallel an, nach Absetzen der Kohlenoxydatmung gibt es dann auch im arteriellen Blute keinen „initialen Abfall" der CO-Sättigung. Wie aber auch immer das Kohlenoxyd dem Körper zugeführt wurde, einige Zeit nach Absetzen der CO-Atmung findet sich ein stationärer Zustand, arterielle und venöse CO-Sättigung sind annähernd konstant, nur bei längerer Registrierung sieht man, daß beide langsam und parallel abnehmen. Das langsame Abnehmen des Kohlenoxydgehaltes kann, wie zu erwarten, durch Sauerstoffatmung oder Carbogengasatmung beschleunigt werden. Die Tatsache, daß sich nach einer befristeten Einatmung von Kohlenoxyd ein nahezu konstanter Zustand in bezug auf die Kohlenoxydsättigung des venösen und arteriellen Blutes einstellt, zeigt die Berechtigung der Methode der Blutmengenbestimmung durch die sogenannte CO-Methode (vgl. Hartmann[4], Haldane[3]). Das CO-Hb ist in diesem stationären Zustand annähernd gleichmäßig auf die zirkulierende Blutmenge verteilt, Versuche an Mensch und

[3] Haldane, J. S.: Respiration New Haven 1922. — [4] Hartmann, H.: Ergebn. d. Physiol. **39**, 413 (1937).

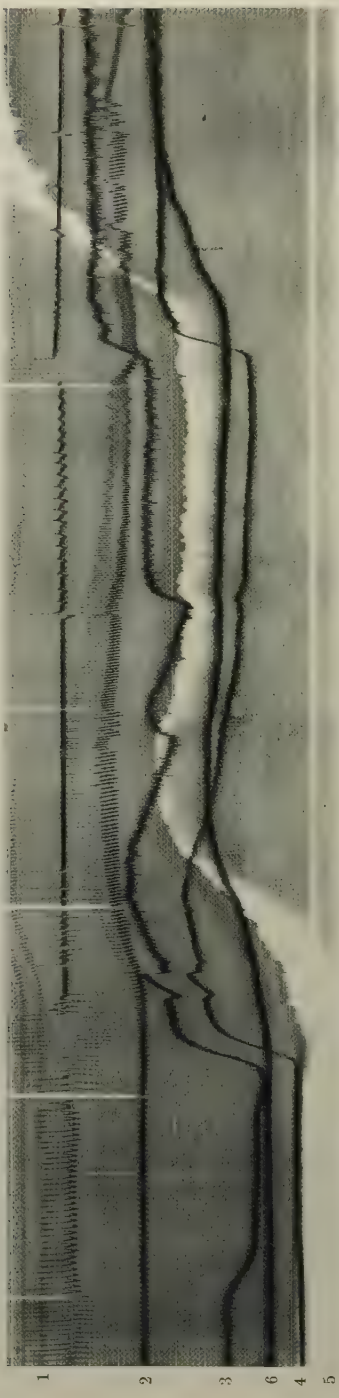


Abb. 2. 1. Atmung; 2. Blutdruck; 3. Arterielles Blut, Rotlicht; 4. Arterielles Blut, Ultrarotlicht; 5. Blut des rechten Vorhofes, Rotlicht; 6. Blut des rechten Vorhofes, Ultrarotlicht. Atmung von N_2, $N_2 + 20\,\%$ CO, Luft, O_2, 100 % CO wie angegeben.

Tier zeigten uns, daß nach Einatmung von 1—3 % CO in der Inspirationsluft dieser stationäre Zustand schon 80—120 Sekunden nach Absetzen der CO-Atmung erreicht ist. In dieser Zeit erfolgt kein merklicher Verlust an CO durch Abatmung. Injiziert man während des stationären Zustandes ein Präparat, daß eine Ausschüttung der sogenannten Blutdepots bewirkt, so sieht man eine vorübergehende Abnahme der CO-Hb-Konzentration im Blute. Leider läßt sich dies quantitativ nur schwierig verfolgen, da nach dem in der vorigen Arbeit Gesagten auch die Konzentration des Gesamt-Hb unter diesen Umständen im Blute sich ändert. (Möglich wäre auch quantitative Verfolgung im arteriellen Blute nach den in der vorigen Arbeit angegebenen Grundsätzen, wenn man während der Adrenalininjektion durch Sauerstoffatmung die Gegenwart des dritten Blutfarbstoffs des Red-Hb ausschalten würde.)

Abb. 2 zeigt den Ablauf einer schwereren CO-Vergiftung durch Atmung eines Gemisches von Stickstoff mit 20 % CO. Registriert wurde wieder neben Blutdruck und Atmung die Lichtdurchlässigkeit des arteriellen und venösen Blutes in beiden Spektralbezirken. Am Anfang der Registrierung atmet der Hund reinen Stickstoff. Die dadurch bewirkte Abnahme der Sauerstoffsättigung ist nur in der Rotlichtkurve des arteriellen Blutes deutlich erkennbar. Alle anderen Kurven sind so unempfindlich geschrieben, daß Änderungen der Sauerstoffsättigung in ihnen nicht

deutlich zur Darstellung kommen. Nach kurzer Stickstoffatmung wurde ein Gemisch von $N_2 + 20\,\%$ CO geatmet. Man sieht sofort die Lichtdurchlässigkeit des arteriellen Blutes in beiden Spektralbezirken zunehmen, langsamer nimmt auch die Lichtdurchlässigkeit des venösen Blutes zu. Ungefähr 30 Sekunden lang nach Umsetzen der Atmung auf das CO-Gemisch zeigt der Hund eine kräftige Hyperventilation, dann wird die Atmung langsam und es tritt bald eine Atemlähmung ein. Noch vor dem Aufhören der Atmung wurde erst Luft, dann Sauerstoff gegeben. Nach dem Absetzen der CO-Atmung nimmt die Lichtdurchlässigkeit des arteriellen Blutes in beiden Spektralbezirken langsam ab, in der Rotlichtkurve kommen neben der Abnahme der Lichtdurchlässigkeit des Blutes, die durch die Abnahme des CO-Hb-Anteils bedingt ist, noch Schwankungen der Sauerstoffsättigung des vom CO nicht belegten Hämoglobins zur Darstellung, man sieht die Lichtdurchlässigkeit des Blutes im roten Lichte in der Apnoe abnehmen, nach einigen Atemzügen, besonders nach Umschaltung auf Sauerstoff, wieder zunehmen. Diese Schwankungen der Sauerstoffsättigung des von CO nicht belegten Hb-Anteils sind in der Ultrarotkurve des arteriellen Blutes nicht sichtbar. Zuletzt wurde reines

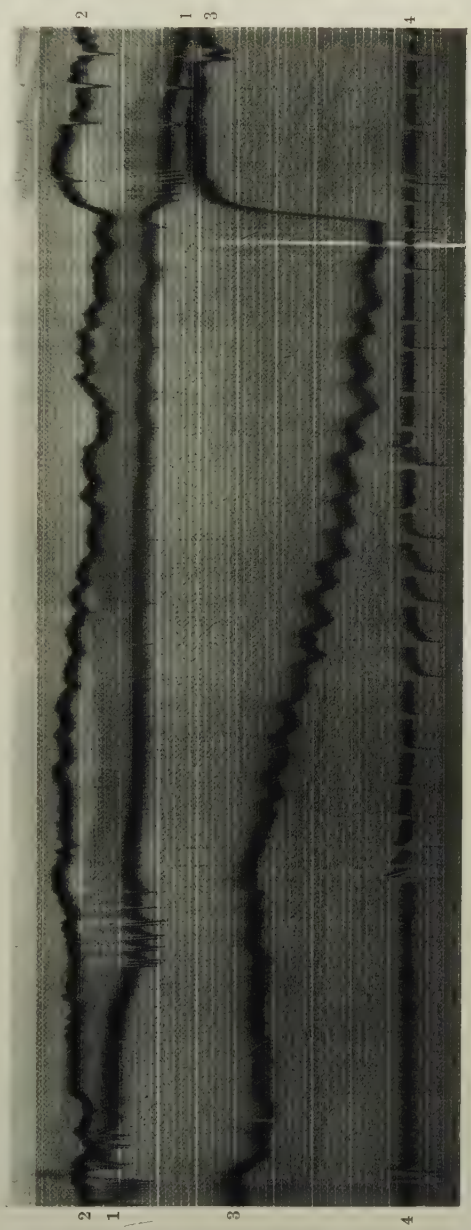


Abb. 3. 1. Blutdruck: 2. Arterielles Blut, Rotlicht; 3. Arterielles Blut, Ultrarotlicht; 4. Atmung. Zustand nach CO-Vergiftung. Abatmung des CO bei Spontanatmung. Bei Marke Atmung von 100% CO.

CO gegeben, dabei wurde künstliche Atmung (rhythmisches Aufblasen des Thorax mit Hilfe der CO-Bombe) angewandt, um sicherzustellen, daß genügend reines CO in die Lunge kam.

Aus dem Anstieg der CO-Sättigung des Blutes, der jetzt erfolgt, ist ersichtlich, daß die Sättigung des arteriellen Blutes mit CO nach der Atmung des CO-N_2-Gemisches nicht vollständig war, noch weniger vollständig war die Sättigung des Venenblutes. Nach der künstlichen Ventilation mit CO war dagegen die Sättigung des arteriellen Blutes mit CO vollständig. Dies wurde durch van Slyke-Analyse kontrolliert.

Die Abgabe des Kohlenoxyds durch Abatmung erfolgt um so schneller, je größer das Atemvolumen und je größer die Kohlenoxydspannung und der Kohlenoxydgehalt des Blutes ist. Jede Erhöhung der Sauerstoffspannung der Alveolarluft bewirkt bei gleichem Kohlenoxydgehalt des Blutes eine Erhöhung auch der Kohlenoxydspannung im Blute und vergrößert dadurch die Differenz der Kohlenoxydspannung zwischen Blut und Inspirationsluft und beschleunigt so die Elimination des CO. Wir werden also die Abatmung des Kohlenoxyds durch die Lunge am besten verfolgen können, wenn wir einen sehr stark mit CO vergifteten Hund Sauerstoff (oder Carbogengas) atmen lassen. Abb. 3 zeigt die Lichtdurchlässigkeit des arteriellen Blutes eines Hundes, der nach Atmung eines Gemisches von 50 % und O_2 mehrere Minuten im Zustand der Atemlähmung gelegen hatte. Während dieser Zeit hatte die zirkulierende Blutmenge des Hundes Zeit, sich gleichmäßig und zu einem sehr hohen Grade mit CO zu sättigen. Die Abbildung zeigt die Wirkung der ersten Atemzüge nach der Atemlähmung bei Sauerstoffatmung. Der atemsynchrone langsame Abfall der CO-Sättigung des Blutes kommt hier nicht durch ungleichmäßige Verteilung des CO-Hb im Körper, sondern wirklich durch die Abgabe des CO in den Lungen zustande. Analoge Kurven, in denen auch der CO-Gehalt des Venenblutes registriert wurde, zeigen unter diesen Umständen eine nahezu parallele Abnahme der venösen und arteriellen CO-Sättigung. In Abb. 3 wurde nach einiger Zeit die Atmung auf reines CO umgeschaltet, man sieht den sofortigen Anstieg auf 100 % CO-Sättigung zugleich mit Blutdruckabfall, dem bald der Tod folgte.

Bei der in diesen Experimenten verwandten Registrierempfindlichkeit gibt die Ultrarotkurve des arteriellen Blutes nur Schwankungen des CO-Gehaltes des Blutes wieder, sie ist gegenüber Änderungen der Sauerstoffsättigung unempfindlich. Die Rotlichtkurve des arteriellen Blutes gibt dagegen Änderungen des Sauerstoffgehaltes ebenso wie Änderungen des CO-Gehaltes des Blutes wieder. Gleichzeitige Registrierung beider Kurven ermöglicht es, nebeneinander Sauerstoffsättigungsschwankungen und Änderungen der CO-Sättigung des Blutes zu erkennen und qualitativ sowohl als quantitativ voneinander abzugrenzen.

Seit den Untersuchungen von Hartridge und Roughton[5] wissen wir, daß trotz der größeren Affinität des Hämoglobins für das Kohlenoxyd die Reaktionsgeschwindigkeit der Reaktion CO + Hb = CO-Hb in vitro etwa 10mal langsamer ist als die der Reaktion O_2 + Hb = O_2-Hb. Die 280mal größere Affinität des Hb für das CO hat ihren Grund darin, daß die Gegenreaktion CO-Hb = CO + Hb nicht nur 10mal, sondern mehr als 2000mal langsamer ist als der Zerfall des Oxyhämoglobins unter den gleichen Umständen.

Nach Roughton[6] ist der Unterschied zwischen den Reaktionsgeschwindigkeiten nicht ganz so groß, wenn statt Hämoglobinlösungen nichthämolysiertes Blut untersucht wird. So gibt Roughton an, daß die Reaktion O_2 + Hb = O_2-Hb in Hämoglobinlösungen in 0,004 Sekunden, in Blutkörperchensuspensionen in 0,05 Sekunden bis zur Hälfte fortgeschritten ist; die Reaktion CO + Hb = CO-Hb erreicht in Hb-Lösungen 50% CO-Sättigung in 0,04 Sekunden, in Blutkörperchensuspensionen 0,14 Sekunden. Die Geschwindigkeit der Kohlenoxydaufnahme verhält sich also zu der Aufnahme des Sauerstoffs in Hb-Lösungen wie 1 : 10, in Blutkörperchensuspensionen wie 1 : 3. Ähnliche Zahlen finden sich bei Bateman und Roughton[7]. Bringt man sauerstofffreies Blut zusammen mit einer Mischung von Sauerstoff und Kohlenoxyd, so muß nach diesen Befunden angenommen werden, daß sich zunächst sowohl Oxy-Hb als auch CO-Hb bildet, die Bildung des Oxy-Hb wird sogar wegen der größeren Reaktionsgeschwindigkeit schneller und in größerem Ausmaß stattfinden als die des CO-Hb. Da das Oxy-Hb aber 200mal so schnell wieder zerfällt als das CO-Hb, so wird sich das Reaktionsgleichgewicht immer mehr zugunsten des CO-Hb verschieben, bis es sich entsprechend dem Affinitätsverhältnis einstellt. In der Lunge steht nun das Blut nur während einer begrenzten Zeit (nämlich so lange, als es in den Lungenkapillaren verweilt) im Gasaustausch mit der Alveolarluft. Wenn die Verweildauer des Blutes in den Lungenkapillaren kurz ist gegenüber dem Zeitbedarf dieser drei Reaktionen (O_2 + Hb = O_2-Hb; CO + Hb = CO-Hb; O_2-Hb + CO = CO-Hb + O_2), so müßte es gelingen, nachzuweisen, daß das Blut aus einer Mischung von CO und O_2 zunächst mehr Sauerstoff aufnimmt als dem Affinitätsverhältnis entspricht. Der Vorteil, den der Sauerstoff gegenüber dem Kohlenoxyd in bezug auf die Geschwindigkeit seiner Reaktion mit dem Hb hat, müßte um so deutlicher zur Geltung kommen, je kürzer das Blut in den Lungenkapillaren verweilt.

Wir ließen das arterielle Blut eines Hundes an Sauerstoff verarmen, indem wir dem Hund Stickstoff zu atmen gaben, dann wurde die Atmung auf ein Gemisch von O_2 + 20% CO umgestellt. Nach dem Affinitätenverhältnis sollte aus dieser Mischung nur CO, aber keine nachweisbare

[5] Hartridge u. Roughton: J. of Physiol. **62**, 232 (1927). — [6] Roughton, F. J. W.: Proc. Roy. Soc. Ser. B, **111**, 1 (1932). — [7] Bateman u. Roughton: Biochem. J. **29**, 2622 (1935).

Menge Sauerstoff in das Blut aufgenommen werden. Eine nachweisbare Aufnahme von Sauerstoff würde ein Zeichen dafür sein, daß die Zeit, die das Blut in den Lungenkapillaren verweilt, nicht ausreicht, um die drei genannten Reaktionen vollständig zu Ende gehen zu lassen. Wir können nun aus den Arbeiten von Roughton und seinen Mitarbeitern nicht genau den Zeitbedarf dieser drei Reaktionen unter physiologischen Bedingungen entnehmen. Wir finden die Angabe, daß die dritte Reaktion (O_2-Hb + CO — CO-Hb + O_2) in Hämoglobinlösungen etwa 10mal so langsam vor sich geht als die Aufnahme des CO durch das Hb, also 100mal langsamer als die Vereinigung von O_2 mit Hb. Es ist aber anzunehmen, daß die Unterschiede der Reaktionsgeschwindigkeiten auch hier geringer sind, wenn statt Hb-Lösungen Blutkörperchensuspensionen untersucht werden. Auch stimmen die Bedingungen der in vitro-Versuche Roughtons in bezug auf Temperatur, O_2-Druck, CO-Druck, Konzentration des Blutes, p_H nicht völlig mit den physiologischen Bedingungen überein und es ist aus den Angaben des Autors nicht für alle Reaktionen möglich, die nötigen Korrektionsfaktoren für diese Größen zu ermitteln. Daher können uns die Arbeiten von Roughton und seinen Mitarbeitern zunächst nur als qualitativer Hinweis auf die relativen Geschwindigkeiten dieser Reaktionen dienen, wir können aus ihnen nicht direkt absolute, im physiologischen Bereich gültige Reaktionszeiten entnehmen. Wir glauben jedoch nicht im wesentlichen fehlzugehen, wenn wir den Angaben Roughtons entnehmen, daß die Geschwindigkeit der Vereinigung des Sauerstoffs mit dem Hb immer größer ist als die entsprechende Reaktionsgeschwindigkeit des CO und daß die Austreibung des Sauerstoffs aus seiner Hb-Verbindung O_2-Hb + CO = CO-Hb + O_2 immer langsamer vor sich geht als die beiden anderen Reaktionen. Der Unterschied zwischen der ersten und der letzten Reaktion beträgt wohl mindestens eine Zehnerpotenz der Größenordnung.

Die Feststellung, ob das Blut bei seiner Passage durch die Lungenkapillaren genügend Zeit hat, um die drei geschilderten Reaktionen ungestört zu Ende gehen zu lassen, ist von prinzipieller Bedeutung für die Theorie der Diffusion der Atemgase durch die Lunge. Es gibt heute noch keine allgemein angenommene und befriedigende Erklärung der Tatsache, daß der Ausgleich der Sauerstoffspannung zwischen Alveolarluft und Blut in der Ruhe nicht vollständig ist (Literatur siehe Matthes[8]). Von verschiedenen Autoren (Bock, Dill, Edwards, Henderson und Talbot[9], Matthes[8], Sarre[10] usw.) ist die Möglichkeit diskutiert worden, ob nicht die Geschwindigkeit der chemischen Reaktion O_2 + Hb = O_2-Hb unter Umständen einen limitierenden Faktor für die Sauerstoffaufnahme in die Lunge darstellen kann. Wäre die Verweildauer des Blutes in den Lungen-

[8] Matthes, K.: Erg. d. inn. Med. u. Khk. **53**, 169 (1937). — [9] Bock, Dill, Edwards, Henderson u. Talbot: J. Physiol. **68**, 277 (1929). — [10] Sarre, H.: Z. Biol. **96**, 352 (1935).

kapillaren kürzer als der Zeitbedarf dieser Reaktion, so könnte dies für die Unvollständigkeit des Ausgleichs der Sauerstoffspannung unter bestimmten Umständen verantwortlich gemacht werden. Wenn es nun jetzt gelingen sollte nachzuweisen, daß die Zeit, die das Blut in den Lungenkapillaren verweilt, sogar ausreicht, um die viel langsameren Reaktionen $CO + Hb = CO\text{-}Hb$ und $O_2\text{-}Hb + CO = CO\text{-}Hb + O_2$ zu Ende gehen zu lassen, so könnte es als erwiesen betrachtet werden, daß die so viel schnellere Reaktion der Vereinigung des Sauerstoffs mit dem Hb kein limitierender Faktor für die Sauerstoffaufnahme in den Lungen sein kann. Die Diskussion über die Frage der Aufnahme des Sauerstoffs durch die Lunge könnte durch eine solche Feststellung wesentlich vereinfacht werden.

In unseren Versuchen haben wir die Lichtdurchlässigkeit des arteriellen Blutes von narkotisierten Hunden im roten und ultraroten Spektralgebiet registriert. Der Hund atmete zunächst eine Zeitlang Stickstoff, bis die arterielle Sauerstoffsättigung auf 50—55% abgefallen war, dann wurde die Atmung auf Sauerstoff oder auf Luft, nach einer weiteren Stickstoffatmung auf reines CO oder auf Gemische von 20% CO mit Sauerstoff, oder auf 20% CO mit Stickstoff umgesetzt. Es konnte so ermittelt werden, ob das sauerstoffverarmte Blut aus der Mischung von Sauerstoff und CO nur das CO, wie aus der Mischung von Stickstoff und CO, oder auch Sauerstoff aufnimmt. Ferner konnte die Form der Kurve des Anstiegs der Lichtdurchlässigkeit des Blutes nach den verschiedenen CO-Gemischen miteinander und mit der Kurve des Anstiegs der Lichtdurchlässigkeit nach Sauerstoff bzw. nach Luftatmung verglichen werden. In Abb. 4 sind drei derartige Versuche nebeneinandergestellt. Daneben kann auch Abb. 2 (bei der allerdings die Filmgeschwindigkeit eine andere ist) zum Vergleich herangezogen werden. Wie in Abb. 2 gibt die Rotlichtkurve sowohl Schwankungen des CO-Gehaltes des Blutes als Schwankungen der Sauerstoffsättigung wieder, während die Ultrarotkurve nur die Schwankungen der CO-Sättigung aufzeichnet. Wenn nach der Atmung des Gemisches von CO und O_2 neben CO auch Sauerstoff in das Blut aufgenommen wird, so muß die Rotlichtkurve des Blutes, in der sich beide Effekte addieren würden, schneller ansteigen als die Ultrarotkurve. Der Vergleich der beiden oberen Kurven von Abb. 4 mit der unteren und Abb. 3 zeigt, daß dies nicht der Fall ist. In allen Kurven steigt die Lichtdurchlässigkeit des Blutes im Anfangsteil der Kurven gerade so rasch an wie im roten Lichte. Auch die genaue Ausmessung der Originalkurven an Hand der Eichkurven ergibt, daß aus der Mischung von Sauerstoff und Kohlenoxyd, ebenso wie aus der Mischung von Stickstoff und Kohlenoxyd nur das Kohlenoxyd, nicht auch der Sauerstoff aufgenommen wird. Dies beweist nach dem oben Gesagten, daß wenigstens in den ersten Sekunden nach Umschaltung der Atmung von Stickstoff auf die CO-Gemische die Verweildauer des Blutes in den Lungenkapillaren groß genug ist, daß alle drei besprochenen Reaktionen ungestört zu Ende gehen können.

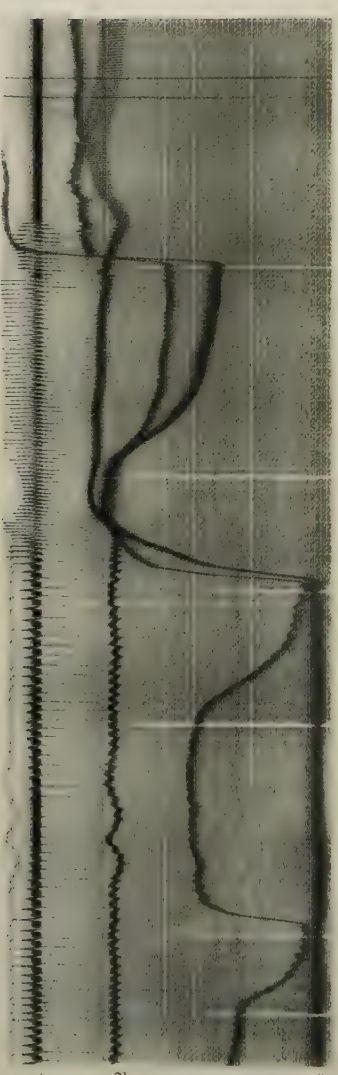


Abb. 4. Obere Kurve.

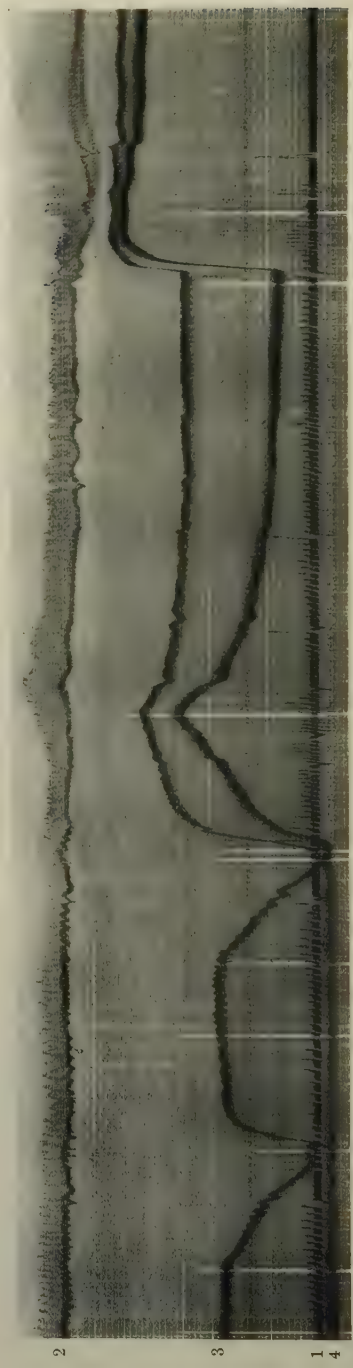


Abb. 4. Mittlere Kurve.

Vergleicht man die Anstiegskurve der Lichtdurchlässigkeit des Blutes nach den CO-Gemischen mit der nach Sauerstoffatmung, so fällt auf, daß nach den CO-Gemischen schon im steilen Teil der Anstiegskurve ein deutlicher Knick sichtbar ist, der einen schnellen ersten Teil des Anstiegs deutlich von einem langsameren zweiten Teil des Anstiegs absetzt. Der Knick erfolgt in Rotlicht- und Ultrarotlichtkurve im gleichen Zeitmoment. Einen derartigen Knick im Bereich des steilen Anstiegs der Kurve haben wir nach Sauerstoffatmung oder nach Luftatmung nie gesehen, auch bei

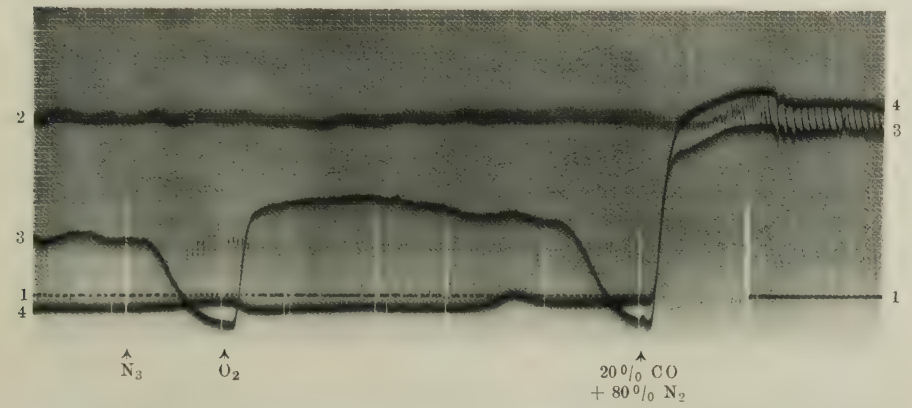


Abb. 4. Untere Kurve. 1. Atmung; 2. Blutdruck; 3. Arterielles Blut, Rotlicht; 4. Arterielles Blut, Ultrarotlicht. Atmung von N_2, O_2, CO wie angegeben.

Atmung von reinem CO nach Stickstoff ist er nicht nachzuweisen. (In den Abbildungen ist eine Kurve des Anstiegs der Lichtdurchlässigkeit bei reiner CO-Atmung nach Stickstoffatmung nicht wiedergegeben, man sieht aber in den beiden oberen Kurven von Abb. 4 sowie in Abb. 2 und 3, wie nach Umsetzen der Atmung auf reines CO die Lichtdurchlässigkeit des Blutes ansteigt. Form und Geschwindigkeit des Anstiegs der Lichtdurchlässigkeit nach CO-Atmung stimmt völlig überein mit dem Anstieg der Lichtdurchlässigkeit, den wir nach Sauerstoff sehen, wie nach Sauerstoffatmung, so wird auch nach Atmung von reinem CO vollständige Sättigung des Blutes mit CO bzw. O_2 in kürzester Zeit (1—2 Minuten) erreicht.

Was bedeutet dieser Knick? Eine Hemmung der Aufnahme des CO durch die Lungen, die erst eintritt, wenn schon ein erheblicher Teil des Hämoglobins von CO besetzt ist. Der nächstliegende Gedanke ist, daß er in dem Moment auftritt, wenn alles reduzierte Hämoglobin verbraucht ist, und die weitere Zunahme der CO-Sättigung des Blutes nur auf Kosten des Oxyhämoglobins stattfinden kann, das steht scheinbar im Widerspruch zu unserem Befund, daß das Blut in den Lungenkapillaren im Beginn der CO-Atmung solange verweilt, daß alle drei Reaktionen des Hb mit CO und O_2 ungestört zu Ende verlaufen können.

Man könnte ferner denken, daß die Lungenventilation bei der Atmung des Gemisches mit 20% CO nicht ausreicht, um eine genügend hohe CO-Spannung in der Alveolarluft aufrechtzuerhalten. Bei näherer Betrachtung der Kurven erscheint dies unwahrscheinlich, da der Knick in einem Zeitpunkt auftritt, in dem die Hyperventilation, die nach der CO-Atmung einsetzt, auf ihrem Höhepunkt ist. Beim Umschalten der Atmung von Stickstoff auf Luft fehlt diese Hyperventilation, trotzdem treten Zeichen einer ungenügenden Ventilation der Alveolen dabei nicht auf. Da die CO-Spannung, die zur völligen Sättigung des Blutes mit CO nötig ist, viel niedriger ist als die entsprechende Sauerstoffspannung, so muß angenommen werden, daß bei der starken Hyperventilation, die nach der Atmung des CO-Gemisches auftritt, die alveolare CO-Spannung dauernd hoch über der CO-Sättigungsspannung des Blutes liegt.

Tabelle 1 enthält einige Angaben über die Sättigung des Blutes mit CO in dem Zeitmoment, in dem der Knick auftritt. Die quantitative Auswertung unserer Kurven ergab ferner, daß im Zeitpunkt des Knicks entweder gar kein reduziertes Blut oder nur noch sehr geringe Mengen (5—10%) von Red-Hb im arteriellen Blute vorhanden waren. Bei der Deutung dieses Befundes muß man bedenken, daß das arterielle Blut ein Mischblut aus verschiedenen Lungenabschnitten darstellt.

Tabelle 1.

Eingeatmetes Gemisch	CO-Gehalt des Blutes im Moment des „Knicks“ %	CO-Gehalt des Blutes 60 Min. nach Beginn des Anstiegs %
N_2 + 20% CO	82	95
N_2 + 20% CO	87	97
N_2 + 18% CO + 18% O_2	56	86
N_2 + 18% CO + 18% O_2	58	90
O_2 + 20% CO	62	86
O_2 + 50% CO	—*	98
100% CO	—*	100
O_2 + 50% CO	86	94

* Kein Knick nachweisbar.

Aus Tabelle 1 sowie aus den wiedergegebenen Kurven geht hervor, daß der „Knick“ bei geringerer Sättigung des Blutes mit CO auftritt, wenn das CO zusammen mit Sauerstoff geatmet wurde. Bei der Atmung von CO mit O_2 ist der Knick auch meist deutlicher ausgesprochen als bei Atmung von CO—N_2-Gemischen. In Tabelle 1 ist auch der Grad der Sättigung des Blutes mit CO angegeben, der eine Minute nach Beginn des Anstiegs der Lichtdurchlässigkeit des Blutes erreicht wurde. Man sieht, daß bei der Atmung von CO—O_2-Gemischen das Blut nach einer Minute weniger mit CO gesättigt ist als bei Atmung von CO—N_2-Gemischen. Auch sonst ist das Vergiftungsbild schwerer, wenn eine Mischung von CO

mit N_2 geatmet wird als bei Atmung der gleichen CO-Konzentration in Sauerstoff. So tritt bei Atmung von 20% CO—N_2 fast immer ebenso wie bei Atmung von reinem CO eine länger dauernde Atemlähmung ein, während nach Atmung von 20% CO + Sauerstoff nur eine kurze Hemmung der Atmung die Regel ist. Also hat die Beigabe von Sauerstoff zu dem CO sowohl einen Einfluß auf die Höhe und die Ausbildung des „Knicks" wie auf den Grad der Sättigung des Blutes mit CO, der nach einer bestimmten Zeit erreicht wird.

Die weitere Analyse des Befundes erfordert einige Überlegungen über die Diffusion des Sauerstoffs und des Kohlenoxyds.

Beim Eindringen des CO von der Alveolarluft in das Blut spielt erstens die Diffusion durch die Alveolarmembran eine Rolle. Die Geschwindigkeit des Eindringens des CO durch die Lungen in jedem Zeitmoment ist gegeben durch den Ausdruck

$$d\,\mathrm{CO}/dt = (P - p) \cdot d. \qquad (1)$$

Dabei bedeutet P den alveolaren CO-Druck, p den (während der Passage des Blutes durch die Lungengefäße wechselnden) CO-Druck des Blutes in den Lungenkapillaren, d die „Diffusionskonstante" der Lungen. A. und M. Krogh[11] maßen die Geschwindigkeit des Verschwindens von CO aus der Alveolarluft bei kleinen alveolaren CO-Spannungen (1—2 mm). Sie fanden, daß das CO unter diesen Umständen aus der Lunge sehr viel langsamer verschwindet, als es hätte der Fall sein müssen, wenn das Blut sich bei seiner Passage durch die Lungenkapillaren annähernd vollständig mit CO bis zur alveolaren CO-Spannung gesättigt hätte. Auf Grund dieser Beobachtungen waren sie berechtigt, die CO-Spannung des Blutes (p) in ihren Experimenten als klein gegenüber der alveolaren CO-Spannung (P) zu vernachlässigen und aus der alveolaren CO-Spannung und der Geschwindigkeit des Abtransportes des CO aus der Lunge die Diffusionskonstante zu errechnen. Arbeitet man mit hohen alveolaren CO-Spannungen (50—100 mm Hg), so ist die Diffusionskonstante nicht mehr der limitierende Faktor für die Aufnahme des CO durch die Lungen. Rechnet man nach Krogh mit einer Diffusionskonstante von 30 ccm CO, so würden bei einer mittleren Spannungsdifferenz von 30 mm Hg 900 ccm CO pro Minute durch die Lungen diffundieren können. Das würde genügen, um das ganze pro Minute durch die Lunge strömende Blut vollständig mit CO zu sättigen. Die Aufnahme des CO durch die Lungen wird dann durch die Größe des Herzminutenvolumens und durch den CO-Gehalt des zur Lunge strömenden Venenblutes begrenzt. Es bleibt zu untersuchen, ob nicht das Ansteigen des CO-Druckes im Blute schon vor Erreichen der vollständigen Sättigung des Blutes mit CO zu dieser Verlangsamung des Eindringens des CO in die Lunge führen kann.

[11] Krogh, A., u. M.: Skand. Arch. Physiol. **23**, 236 (1910).

Wenn im Blute neben Oxy-Hb und CO-Hb noch Red-Hb vorhanden ist, so ist der CO-Druck des Blutes immer sehr niedrig, so daß er gegenüber dem alveolaren CO-Druck vernachlässigt werden kann. Das ergibt sich aus den Dissoziationskurven des CO-Hb bei niedrigen O_2-Spannungen (Haldane[3]).

Sind im Blute nur CO-Hb und O_2-Hb vorhanden, so ist der Druck des Blutes abhängig von der CO-Sättigung des Blutes und der Sauerstoffspannung

$$p_{CO} = p_{O_2} \cdot \frac{(\text{CO-Hb})}{(\text{O}_2\text{-Hb})} \cdot c. \tag{2}$$

Hierbei bedeutet die Konstante c das Verhältnis der Affinität des Hb für O_2 und CO.

Wird eine Mischung von CO und O_2 geatmet, z. B. 20% CO + 80% O_2, so wird die O_2-Spannung des Blutes rasch auf hohe Werte ansteigen. Nehmen wir an, sie betrüge nach 20 tiefen Atemzügen dieses Gemisches 400 mm Hg, so würde die arterielle CO-Spannung bei 50% Sättigung des Hb mit CO 1,4 mm, bei 75% Sättigung 4,3 mm, bei 90% Sättigung 13 mm, bei 45% Sättigung 27 mm, bei 99% Sättigung mit CO 140 mm Hg betragen. (Für c wurde dabei der Wert 1 280 angenommen.)

Man sieht aus diesen Zahlen, daß erst bei einer sehr hohen Sättigung des Blutes mit CO (90% und mehr) die CO-Spannung des Blutes höhere Werte annimmt. Sind die alveolaren CO-Spannungen hoch (50 mm Hg und mehr), wie dies bei Hyperventilation mit 20% CO zu erwarten ist, so kann daher die Aufnahme des CO in das Blut durch das Ansteigen der CO-Spannung im Blute erst bei sehr hoher CO-Sättigung des Blutes gebremst werden. Es ist daher auf diese Weise nicht zu erklären, daß in der Kurve des Anstiegs der CO-Sättigung nach Atmung eines CO-Gemisches von 20% ein „Knick" schon bei einer CO-Sättigung von 50–60% eintritt.

Wird statt 20% CO mit Sauerstoff die gleiche CO-Konzentration mit Stickstoff geatmet, so tritt die Bremsung der CO-Aufnahme durch das Ansteigen der CO-Spannung des Blutes erst bei noch höherer Sättigung des Blutes mit CO auf. Quantitative Angaben lassen sich hierüber allerdings nur schwer machen, da man nicht weiß, welche Werte die O_2-Spannung des Blutes annimmt, wenn Sauerstoff durch das CO aus seiner Hämoglobinverbindung ausgetrieben wird.

Für die Verbindung des im Plasma gelösten Kohlenoxyds mit dem Hämoglobin sowie für den Ersatz des Sauerstoffs im Oxyhämoglobin durch Kohlenoxyd gelten nach Roughton[12] die Gleichungen

$$d\,\text{CO}/dt = K \cdot (\text{CO}) \cdot (\text{Hb}) \tag{3}$$

und

$$d\,\text{CO}/dt = K_1 \cdot \frac{(\text{CO}) \cdot \text{O}_2\text{-Hb})}{(\text{O}_2)}. \tag{4}$$

[12] Roughton, F. J. W.: Proc. Roy. Soc. Ser. B. **115**, 451ff. (1934).

Hier bedeuten (CO), (O_2), (Hb) und (O_2-Hb) die Konzentrationen der entsprechenden Substanzen im Blute, K und K_1 sind die die Reaktionsgeschwindigkeit bestimmenden Konstanten.

Für teilweise oxydiertes Blut ergibt sich

$$dCO/dt = K \cdot (CO) \cdot (Hb) + K_1 \cdot \frac{(CO) \cdot (O_2\text{-Hb})}{(O_2)} \cdot \qquad (5)$$

Diese Gleichungen eröffnen eine Möglichkeit, unsere Befunde zu erklären. Die Reaktion O_2-Hb + CO — CO-Hb + O_2 hat nach Gleichung (4) eine um so höhere Reaktionsgeschwindigkeit, je niedriger die Sauerstoffspannung des Blutes ist. Dringt das Atemgemisch von 20 % CO und 80 % O_2 in die Alveolarluft und in das Blut ein, so ist zunächst viel Red-Hb nach der Stickstoffatmung vorhanden, daher ist die O_2-Spannung des Blutes niedrig und die Reaktionsgeschwindigkeit der besprochenen Reaktion relativ groß. Daher erklärt sich unser Befund, daß im Anfang der CO-Aufnahme in das Blut die chemischen Reaktionen des Hb mit O_2 und CO keinen limitierenden Faktor für die CO-Aufnahme darstellen können. Ist alles Red-Hb verbraucht, so steigt die O_2-Spannung des Blutes steil an, besonders wenn eine Mischung von O_2 und CO geatmet wurde.

Die jetzt stark verlangsamte Reaktion der Zersetzung des Oxyhämoglobins durch CO wird zum limitierenden Faktor für die CO-Aufnahme und veranlaßt einerseits das Auftreten des „Knicks" und bewirkt andererseits, daß das Blut trotz hoher alveolarer CO-Spannung bei der ersten Passage durch die Lungen nicht vollständig mit CO gesättigt wird. Beide Wirkungen sind auch nachweisbar, wenn CO mit N_2 geatmet wird (auch dabei steigt die O_2-Spannung des Blutes, wenn aus dem Oxy-Hb Sauerstoff freigemacht wird), sie sind aber viel deutlicher, wenn Sauerstoff mit CO geatmet wird. Bei reiner CO-Atmung steigt die CO-Spannung im Plasma so schnell an, daß dies die Reaktionen so beschleunigt, daß sie nicht die CO-Aufnahme bremsen. Daher gibt es bei reiner CO-Atmung keinen Knick und 100 % Sättigung des Blutes mit CO wird in kürzester Zeit erreicht.

Die hier gegebene Analyse der Diffusionsverhältnisse konnte nur rein qualitative Angaben über das Eindringen von Kohlenoxyd und Sauerstoff in das Blut machen. Es wäre eine lohnende Aufgabe, diese Angaben in quantitative zu verwandeln. In vivo müßten die Veränderungen der Alveolarluft ebenso wie die Zusammensetzung des arteriellen Blutes fortlaufend aufgezeichnet werden, in vitro müßten die Reaktionsgeschwindigkeiten der Hämoglobinreaktionen unter den gleichen Bedingungen wie in vivo gemessen werden. Es würde so u. a. wahrscheinlich möglich sein, die Zeit, die das Blut in den Lungenkapillaren im Gasaustausch mit der Alveolarluft zubringt, mit einiger Genauigkeit zu messen.

Die in dieser Arbeit beschriebenen Methoden ermöglichen auch beim Menschen eine fortlaufende unblutige Registrierung der CO-Sättigung

des arteriellen Blutes. Die Technik entspricht genau der von Matthes[13] für die Registrierung der Sauerstoffsättigung beim Menschen angegebenen. Spätere Untersuchungen müssen zeigen, ob bei der Untersuchung der menschlichen CO-Vergiftung neue Gesichtspunkte gewonnen werden können.

Zusammenfassung.

Mit einer Methode zur Registrierung der Lichtdurchlässigkeit des Blutes in zwei verschiedenen Spektralbezirken (siehe vorstehende Arbeit) gelingt es, im strömenden Blute neben dem Gehalt des Blutes an Oxyhämoglobin und reduziertem Hämoglobin auch den Gehalt des Blutes an Kohlenoxydhämoglobin fortlaufend aufzuzeichnen.

Wir untersuchten die Kohlenoxydvergiftung von narkotisierten Hunden und konnten die Aufnahme und Abgabe des Kohlenoxyds durch fortlaufende Aufzeichnung des Kohlenoxydgehaltes des arteriellen Blutes und des Blutes im rechten Vorhof zur Darstellung bringen.

Es wurde die Aufnahme von Kohlenoxyd durch die Lunge mit der von Sauerstoff unter den gleichen Bedingungen verglichen. So konnte gezeigt werden, daß nach Sauerstoffverarmung des Blutes durch Stickstoffatmung der Körper aus einer Mischung von Kohlenoxyd und Sauerstoff (20% CO + 80% O_2) entsprechend des Affinitätsverhältnisses nur das CO, nicht aber gleichzeitig auch Sauerstoff aufnimmt. Nach den Arbeiten von Roughton, die nachweisen konnten, daß die Reaktionsgeschwindigkeit der Vereinigung des Hämoglobins mit dem Kohlenoxyd sehr viel langsamer ist als die der Vereinigung des Hb mit dem Sauerstoff, wäre das Gegenteil zu erwarten, wenn die Geschwindigkeit dieser Reaktion ein limitierender Faktor für die Aufnahme des CO bzw. des Sauerstoffs durch die Lunge wäre. Dagegen konnte wahrscheinlich gemacht werden, daß die Reaktionsgeschwindigkeit der Spaltung des O_2-Hb durch das CO unter bestimmten Umständen (hohe arterielle O_2-Spannung) die Aufnahme des CO durch die Lunge limitieren kann. Diese Untersuchungen weisen einen Weg zur Bestimmung der Verweildauer des Blutes in den Lungenkapillaren.

[13] Matthes, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 698 (1935).

Aus dem Pharmakologischen Institut der königl.-ungar. Tisza István-Universität in Debrecen (Ungarn). (Direktor: Prof. Dr. A. v. Jeney.)

Die Wirkung des Quercitrins auf die durch Dinitrophenol verursachte Hyperthermie.

Von

A. v. Jeney, L. Ari und **P. Baranyai.**

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Oktober 1938.)

Die pharmakologische Wirkung des Quercitrins haben wir in unserer letzten Mitteilung[1] in den folgenden zusammengefaßt: 1. Die Herzmuskeltätigkeit wird durch das Quercitrin günstig beeinflußt, die Ermüdung und Vergiftung gemildert und besonders auffallend wird die Elimination der Milchsäure gefördert. Durch die Reizung des Vaguszentrums hemmt das Quercitrin die Reizbildung und die Leitung im Herzen. Wegen dieser Wirkung kann die auf die Herzmuskeltätigkeit ausgeübte günstige Wirkung in der Praxis nicht verwendet werden. 3. Der eine Teil der Quercitrinwirkung ist aber peripherische Kapillarwirkung. In den Ohrkapillaren verursacht es Verengung, in den Kapillaren des Darmtraktes bedeutende Erweiterung, die Nierenkapillaren werden zuerst verengt und sodann erweitert; der Blutgehalt der Milz wird fast kaum beeinflußt.

Rusznyák, Szentgyörgyi[2] und Mitarbeiter versuchten bei an Purpura leidenden Personen Quercitrin- und Rhamnetininjektionen anzuwenden, doch waren sie gezwungen, ihre diesbezüglichen Versuche einzustellen, weil bei den Versuchspersonen Fieber bzw. Kollaps auftritt. Dieser klinischer Erfahrung und den bei Tierversuchen auf den Milchsäurestoffwechsel sich beziehenden Beobachtungen nach konnte man denken, daß das Quercitrin auch auf den respiratorischen Stoffwechsel und die Wärmeproduktion (Wärmehaushalt) eine Wirkung ausübt.

A. Versuche mit Temperaturmessungen.

Zur Aufklärung dieser Frage stellten wir Rattenversuche an. Es wurden im allgemeinen Tiere um 150 g verwendet. Die Temperatur der Ratten schwankt, wie bekannt, zwischen 36,6 und 38,3° C. Die Atmungszahl ist pro Minute 80; Pulszahl: 360—400. Aus dem Quercitrin haben wir mit heißem Wasser eine Lösung von 1 : 1000 bereitet und diese auf 37° C abgekühlt verabreicht. Die auf diese Weise zugeführte Lösungsmenge

[1] v. Jeney, A., J. Méhes, A. G. Czimmer u. L. Sokoray: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 553 (1937). — [2] Armentano, Bentsáth, Béres, Rusznyák u. Szentgyörgyi: Dtsch. med. Wschr. **63**, 1325 (1936).

schwankte zwischen 1,8 und 2,2 ccm. Nach intraperitonealer Einführung von 12 mg/kg Quercitrin konnten wir sehen, daß nach dem anfänglichen, einigermaßen schwankenden Verhalten in 10—90 Minuten eine merkbare Temperaturabnahme (0,6—0,8) (1,0 – 1,1° C) eintrat, welche ungefähr nach 3 Stunden verschwand (ähnlich wie in Abb. 4).

Nach diesen schien es interessant, zu untersuchen, wie das Quercitrin die Wirkung des 1 : 2 : 4-α-Dinitrophenols (DNP) im lebenden Organismus beeinflußt. Wie aus den Mitteilungen von C. Heymans und J. J. Bouckart[3] und anderen bekannt ist, treten nach DNP-Injektion folgende charakteristische Symptome auf: Temperaturerhöhung (Hunde bis 45° C, Tauben bis 50° C), Polypnoë, gesteigerte Wärmeabgabe, lebhafterer Gasstoffwechsel, Glykogenolyse, Hyperglykämie, Vermehrung der Milchsäure und der Phosphate im Blute und den Geweben, nach dem Tode sofortige Leichenstarre. Das DNP tritt also als Katalysator des Zellstoffwechsels und der Wärmeproduktion auf. In der mit DNP und mit dessen verwandten Verbindungen behandelter Hefe ist die Kohlehydratoxydation erhöht (Ehrenfest und Ronzoni[4]). Die stimulierende Wirkung dieser Stoffe auf den Gasstoffwechsel ist am höchsten bei Anwesenheit von Glykose (Field und Tainter[5]). Das DNP wirkt nicht auf den mit Jodacetat vergifteten Muskel, also dann, wenn die Glykolyse in der Muskulatur gehemmt wird (Ehrenfest und Ronzoni). Nach E. H. Bodine und E. J. Boell[6] steigert zwar das DNP auch den Gasstoffwechsel der Grashüpferembryos, obwohl der Stoffwechsel dieser Embryos auf Fetten beruht. Das DNP hat eine Wirkung auch auf poikilotherme Tiere, dieselbe kann weder durch Anaesthetica, noch durch Antipyretica oder durch vorheriges Curarisieren aufgehoben werden (Heymans, van Nytwanck[7], Issekutz, Szende und Novák[8]. Auch die Zerstörung des Gehirns oder des Rückenmarks hemmt die durch DNP verursachte Temperaturerhöhung nicht (W. Cutting und M. L. Tainter[9]). Zwischen der Wirkung der verschiedenen DNP-Präparate wurden entschiedene Unterschiede gefunden. So konnte z. B. festgestellt werden, daß die Orthoabkömmlinge eine Temperaturabnahme und die Paraabkömmlinge eine Temperaturerhöhung und Polypnoë verursachen (R. Jonnard[10]). Eine Neigung zur Akkumulation konnte während der Verwendung des Präparats nicht beobachtet werden. Auffallend war aber die Erscheinung der sich rasch und leicht entwickelnden Gewöhnung. Nach H. Magne, A. Mayer und L. Plantefol[11] kann nach 3 Tage dauernder Verabreichung der halben

[3] Heymans, C., u. J. J. Bouckart: Nederl. Tijdschr. Geneesk. **1932**, S. 3649. — [4] Ehrenfest u. Ronzoni: Proc. Soc. exper. Biol. and Med. **31**, 318 (1933). — [5] Field u. Tainter: Proc. Soc. exper. Biol. and Med. **35**, 168 (1936). — [6] Bodine, E. H., u. E. J. Boell: Proc. Soc. exper. Biol. and Med. **35**, 504 (1936). — [7] Heymans, C., u. P. van Nytwanck: Ann. d. Physiol. **7**, 279 (1931). — [8] Issekutz, Szende u. Novák: Magy. Gyógyszerész-tud. Értesitö. **1937**, 3. sz. — [9] Cutting, W., u. M. L. Tainter: Proc. Soc. exper. Biol. and Med. **29**, 1268 (1932). — [10] Jonnard, R.: J. Physiol u. Path. gen. **33**, 533—543 (1935). — [11] Magne, A. Mayer u. L. Plantefol: Ann. de Physiol. **7**, 269—273 (1931).

oder dreiviertel Menge der tödlichen Dosis auch die tödliche Gabe ohne Schaden den Tieren verabreicht werden. Nach der Entwicklung der Toleranz kann dieselbe tödliche Gabe durch 6 Wochen hindurch täglich injiziert werden, die Tiere bleiben am Leben.

Der Angriffspunkt der die Wärmeproduktion steigernden Wirkung des DNP befindet sich nach allen Autoren an der Peripherie, sie kommt aber nicht durch die Schilddrüse zur Geltung (Cutting, Rytanck und

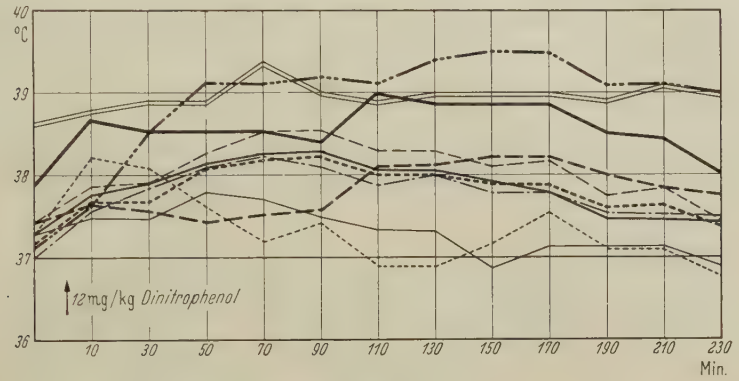


Abb. 1.

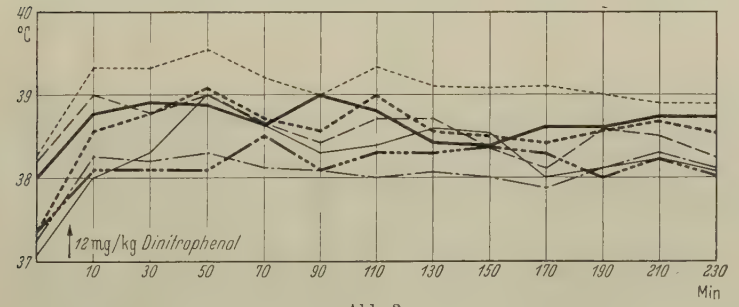


Abb. 2.

Tainter[12], Wishnofsky, Kane, Shlevin und Byron[13]). Eine Hyperglykämie tritt nach DNP aber nur dann auf, wenn in dem Organismus genügend Glykogen vorhanden ist.

Bevor wir die Wirkung des Quercitrins untersuchten, studierten wir auch selbst die DNP-Wirkung auf Ratten. Wir fanden am entsprechendsten eine Gabe von 12 mg/kg (von einer 1 : 1000 verdünnten Lösung ungefähr 1,8—2,2 ccm auf 37° C erwärmt i. p.), weil diese Menge eine regelmäßige Hyperthermie bei den Ratten hervorruft, ohne daß die Tiere in 3—4 Stunden zugrunde gehen. Im Organismus der so behandelten Tiere

[12] Cutting, W. C., Rytanck u. M. L. Tainter: J. clin. Invest. **13**, 547 (1934). — [13] Wishnofsky, M., A. P. Kane, E. L. Shlevin u. Ch. S. Byron: Arch. int. Med. **56**, 374—381 (1935).

trat die Temperaturerhöhung schon in 10 Minuten ein und den höchsten Grad erreichte sie ungefähr zwischen 70 und 130 Minuten (0,4—0,9—1,5—1,9—2,4° C Erhöhung). Die Fieberreaktion bestand ungefähr durch $3^1/_2$ Stunden hindurch. In den ersten zwei Tabellen (Abb. 1 und 2) sind 17 solche Versuche dargestellt. Außer diesen konnten wir in drei Hauptversuchen bei je fünf Tieren (insgesamt 15) ähnliche DNP-Wirkung beobachten. Bloß in einem Hauptversuch dauerte die Temperaturerhöhung länger als $3^1/_2$ Stunden.

Nachdem wir die Reaktionsweise von fünf Ratten bei auf Grund der Vorversuche angewandten DNP-Gaben festgestellt haben (Abb. 3), haben

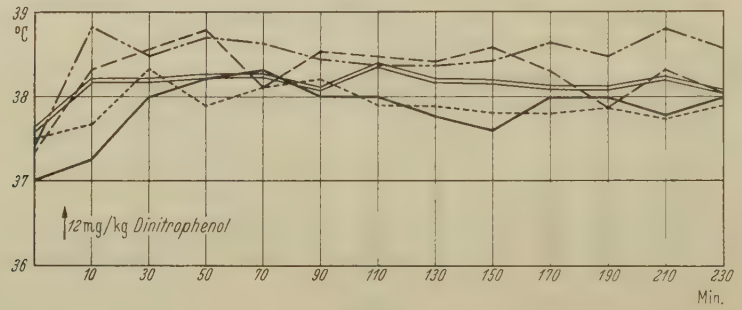


Abb. 3.

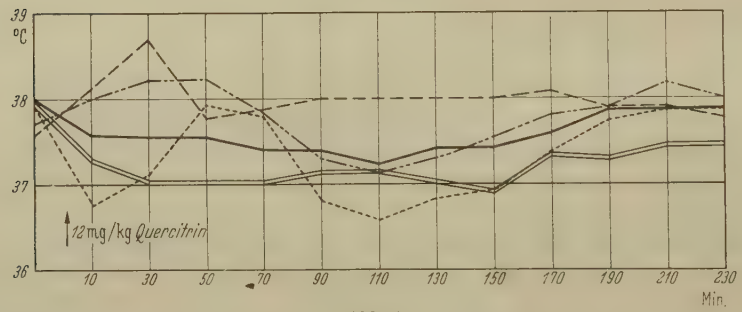


Abb. 4.

wir nach 24 Stunden bei denselben Tieren die Wirkung des Quercitrins (12 mg/kg = 1 : 1000 verdünnte Lösung 1,8—2,2 ccm, auf 37° C erwärmt) beobachtet. Wie in jedem unserer Versuche, so haben wir auch in dieser Versuchsreihe nach den Injektionen die Temperatur der Tiere zuerst nach 10 Minuten und dann jede 20 Minuten durch 3 Stunden 50 Minuten hindurch gemessen. Die Wirkung des Quercitrins verlief auch in diesem Hauptversuch auf die oben beschriebene Weise (Abb. 4).

Nachdem wir die Empfindlichkeit der Tiere sowohl gegen DNP wie gegen Quercitrin festgestellt haben, gaben wir am dritten Tage denselben Tieren DNP und Quercitrin zugleich, in derselben Menge und Gaben wie

an den vorigen Tagen. Die Temperaturmessungen zeigten (Abb. 5), daß die Temperatur der auf diese Weise behandelten Tiere im allgemeinen nur in der ersten halben Stunde in sehr niedrigem Grade anstieg (mit 0,3 bis 0,6° C). In der 50—130. Minute nach der Injektion sank die Temperatur bedeutend unter die Anfangswerte (mit 0,7—1,2—1,7° C). Nach dieser Zeit trat eine zweite, von der ersteren etwas stärkere Temperaturerhöhung ein, der Wärmegrad der Tiere steigerte sich um 0,4—0,6—0,8—0,9—1,4° C gegen den Normaltemperaturwert. Nach $3^1/_2$ Stunden nahm auch diese Temperaturerhöhung ab, doch verschwand sie noch nach 4 Stunden nicht vollständig. In diesem Versuch war auch interessant, daß die Temperatur der mit DNP vergifteten Tiere auf Wirkung des Quercitrins — wenn auch für kurze Zeit — doch stärker abnahm als dieselbe von gesunden Tieren, welche wir nur mit Quercitrin behandelten. In diesem Falle betrug nämlich

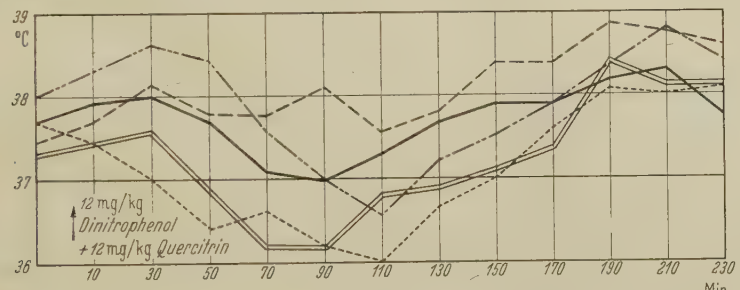


Abb. 5.

der Grad der Temperatursenkung 0,6—1,1° C und im Falle gleichzeitiger Anwendung des DNP und des Quercitrins nahm die Temperatur um 0,7—1,7° C ab. Die Wirkung des DNP wird also durch das Quercitrin vorübergehend aufgehoben, welche aber später teilweise doch zur Geltung kommen kann.

Tainter und Cutting lenken die Aufmerksamkeit darauf, daß, wenn die Wärmeabgabe durch Injizierung von Kochsalzlösung in die Bauchhöhle gefördert wird, die fieberhafte Temperaturerhöhung nach DNP-Vergiftung geringer wird. Auch im Laufe unserer Versuche mußte in Betracht gezogen werden, daß wir eine ganz bedeutende Menge Flüssigkeit den einzelnen Tieren injizierten. Eine 150 g schwere Ratte bekam z. B. 3,6 ccm Flüssigkeit, als wir das DNP mit dem Quercitrin zugleich verabreichten. Deshalb stellten wir auch solche Versuche an, wo wir den Tieren neben der DNP-Vergiftung noch soviel Flüssigkeit in Form physiologischer Kochsalzlösung gaben, wieviel sie im Falle gleichzeitiger Verabreichung von DNP und Quercitrin bekamen. Die Versuche zeigten, daß diese Mehrzufuhr von Flüssigkeit (insgesamt 3,5 ccm) die durch das DNP verursachte Hyperthermie merkbar noch nicht beeinflußt. Nur wenn wir eine noch größere Flüssigkeitsmenge (in jedem Falle noch weitere 2 ccm, insgesamt 5,5 ccm

physiol. Kochsalzlösung) in die Bauchhöhle der Tiere einführten, nur dann konnten wir die durch DNP verursachte Temperaturerhöhung am Anfang verringern (Abb. 6). Aber auch in diesem Falle konnten wir das, was nach gleichzeitiger Anwendung von DNP und Quercitrin zu beobachten war, nicht sehen, daß nämlich die Temperatur der Tiere unter die Norm gesunken wäre. Man kann es übrigens auch nicht annehmen, daß bei reichlicher Zufuhr von körperwarmer Flüssigkeit die Herabsenkung der Temperatur der Tiere unter die Norm möglich wäre.

Nachdem nach unseren älteren Versuchen die Wirkung des Quercitrins darin bestand, daß es den Vaguszentrum bedeutend reizt, schien es

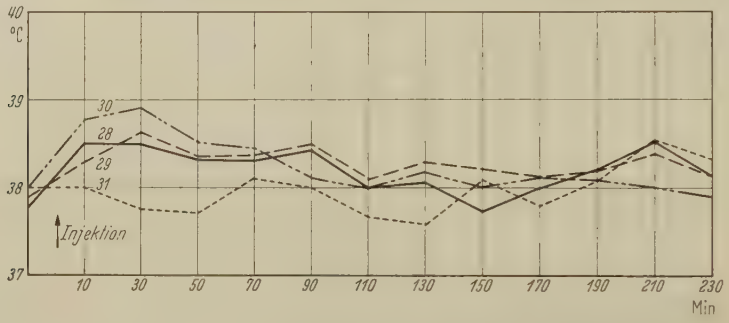


Abb. 6.

—·—·— Ratte Nr. 30. 12 mg/kg DNP in 3 ccm Flüssigkeit eingespritzt.
——— „ „ 28. 12 „ „ „ 3,5 „ „ „
– – – „ „ 29. 12 „ „ „ 4,5 „ „ „
------- „ „ 31. 12 „ „ „ 5,5 „ „ „

angezeigt zu untersuchen, ob die hemmende Wirkung des Quercitrins auf die durch DNP verursachte Hyperthermie auch dann zu beobachten ist, wenn wir die parasympathischen Nervenendigungen mit Atropin lähmen.

Bei der Wahl der auf die Ratten wirksamen Atropingaben gingen wir von den Angaben Cushnys aus (tödliche Gabe 0,5—1,0 g/kg). In den Vorversuchen fanden wir die Atropin sulf.-Gabe von 0,20 g/kg zu hoch, weil sie bei den Tieren größere Unruhe hervorrief. Deshalb wählten wir die Gabe von 0,15 g/kg. (Wir gaben von 10%iger Lösung 0,20—0,25 ccm, um auch dadurch die Menge der zugeführten Flüssigkeit nicht zu erhöhen.) Nachdem wir die Wirkung dieser Atropingabe bei gesunden (mit DNP und Quercitrin nicht behandelten) Ratten festgestellt haben, haben wir die in unseren vorigen Versuchen separat mit DNP und Quercitrin und gleichzeitig mit den beiden behandelten fünf Ratten 24 Stunden nach der kombinierten Behandlung atropinisiert (0,15 g/kg subcutan). Nach der Atropinisierung erfolgte im allgemeinen eine leichte Temperaturerhöhung (0,3—0,7—0,9° C), welche in ungefähr 3 Stunden aufhörte (Abb. 7). Nach weiteren 24 Stunden beobachteten wir, wie die Atropingabe die Wirkung des DNP verändert. Das Ergebnis dieses Versuches war, daß

die Hyperthermie verschoben eintrat und erst nur in 90 Minuten in Erscheinung trat (Abb. 8). Den Gipfelpunkt erreichte sie zwischen der zweiten und dritten Stunde, zu welcher Zeit die Temperatur um 0,5—1,1° C über die Norm anstieg.

Die Quercitrinwirkung wurde durch das Atropin nicht aufgehoben. Gaben wir denselben Tieren nach einer Pause von 48 Stunden Atropin und Quercitrin zugleich, war der Grad der leichten Temperatursenkung

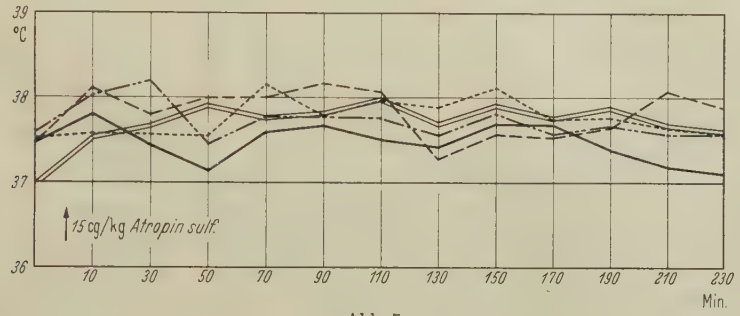


Abb. 7.

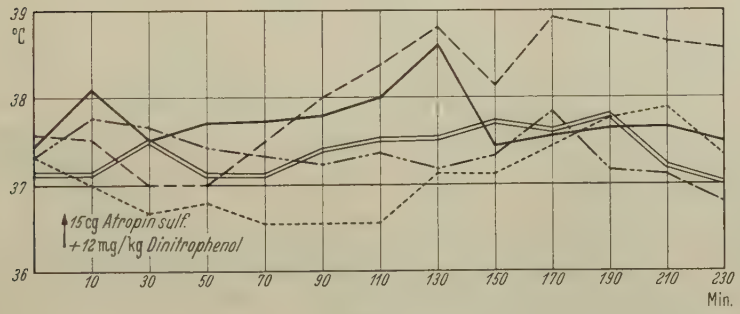


Abb. 8.

nahe dem, welchen wir nach Quercitrin allein beobachten konnten (Abb. 9). Das Quercitrin vermindert also nicht nur die DNP-Hyperthermie, sondern scheinbar verhindert es auch die Entwicklung der Atropinhyperthermie.

Nach diesen haben wir unsere Tiere nach 24stündigem Ruhen von neuem atropinisiert und gleichzeitig mit DNP und Quercitrin behandelt (Abb. 10). Die Fieberreaktion erfolgte von den fünf Tieren bloß bei einem und auch bei diesem nur nach 70 Minuten. Dies war dasselbe Tier, bei welchem das Quercitrin vorher die DNP-Hyperthermie am wenigsten beeinflussen konnte. Die Temperatur der übrigen vier Tiere sank ab und erreichte auch in 4 Stunden den Normalwert nicht. Die Temperaturabnahme war zwischen 50 und 90 Minuten am stärksten und ergab 1,0—1,2—1,4—1,8° C.

Dieser Hauptversuch wurde noch zweimal in beiden Fällen mit je fünf Ratten wiederholt und auch die Ergebnisse dieser Versuche waren denen der vorher beschriebenen Versuchsreihe gleich. Von der Darstellung der gesamten, an insgesamt 15 Tieren auf ähnliche Weise durchgeführten Versuche mußten wir absehen, nicht nur weil wir die drei Versuchsreihen in verschiedenen Zeitpunkten mit Unterbrechungen durchführten, sondern auch deswegen, weil die Darstellung der Temperaturangaben von mehr als fünf Tieren ein sehr unklares Bild der Ergebnisse gegeben hätte.

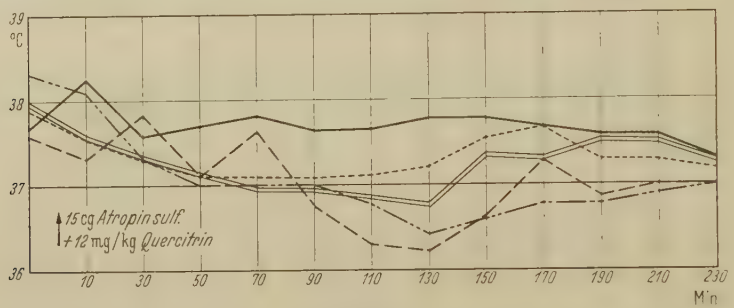


Abb. 9.

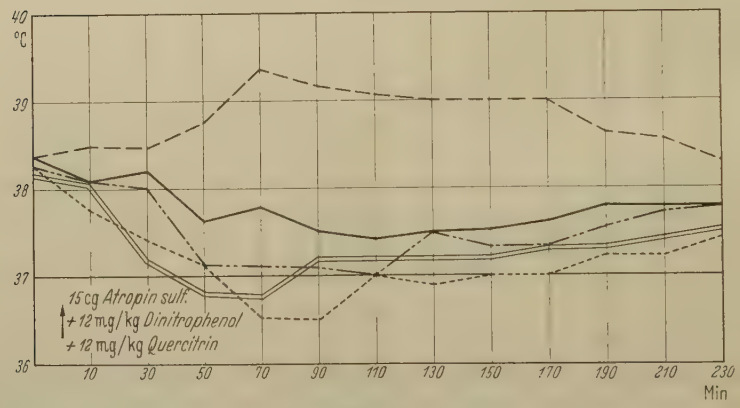


Abb. 10.

Nach Durchsicht der Literaturangaben fanden wir, daß die DNP-Wirkung auch auf anderem Wege verhindert werden konnte. So konnten z. B. Gautrelet und Mitarbeiter[14] das DNP-Fieber mit Viperngift verhindern. Eine nicht tödliche Viperngiftgabe kann nämlich die Temperatur der Meerschweinchen in 3 Stunden auch mit 2—3° C herabsetzen. Wenn die Verfasser nach dem Viperngift subcutan 20— 30 mg DNP verabreichten, so nahm die Temperatur nicht ab, sondern im Gegensatz, sie

[14] Gautrelet, J., N. Halpern, E. Corteggiani: C. r. Soc. Biol. Paris **121**, 319—321 (1936).

stieg um 3—5° C an. Falls die beiden Stoffe gleichzeitig verabreicht wurden, so änderte sich die Temperatur nur unwesentlich. Die genannten Autoren meinen, daß sich der Antagonismus auf die in den Zellen sich vollziehende Oxydation bezieht, daneben aber auch die peripherische Erweiterung der Kapillaren eine Rolle spielt. In den Versuchen von Leulier und G. Bérnard[15] hat 50—70 mg Cyrogenin (Phenylsemicarbacid) bei Tauben ebenfalls eine antagonistische Wirkung auf die DNP-Vergiftung ausgeübt (12 mg/kg).

Wir müssen bemerken, daß die Zimmertemperatur während der Versuche um 22° C war. Nach einigen Autoren hat nämlich auch die Zimmertemperatur eine Bedeutung in der Entwicklung der Reaktion. P. Sarzana[16] konnte z. B. bei niedriger Temperatur (3—7° C) eine bedeutende Wärmeabnahme nach 16 mg/kg 1 : 2 : 4-α-DNP bei Tauben und Ratten beobachten. A. Riddle und G. C. Smith[17] behandelten Tauben nach 24stündigem Hungern mit DNP und fanden bei 15° C eine geringere Steigerung der Oxydation als bei 30° C. C. Zummo[18] beobachtete bei 3° C nach DNP kaum eine Steigerung des Stoffwechsels, aber bei 28° C (bei der kritischen Temperatur des Tieres) löste dieselbe DNP-Gabe sofort eine Temperaturerhöhung aus, welche bis zum Tode der Tiere (Tauben) bestand. Nach A. Tcherkess, W. Melnikowa und S. Doubachinskava[19] ist die Ursache des durch das DNP hervorgerufenen Todes nicht einmal selbst die Hyperthermie, nachdem man die vergifteten Tiere auch mit kühlen Bädern abgekühlt nicht am Leben halten kann.

Bei der Beurteilung der beschriebenen Wirkungen müssen auch die im allgemeinen Kreislauf sich vollziehenden Veränderungen mit in Betracht gezogen werden. Nach Freemann[20] wird durch das DNP der Kreislauf beschleunigt. Nach den meisten Autoren wirkt aber schon eine ganz geringe Menge des DNP auf das Herz schädigend. Auf Wirkung von 0,04—0,4%igem DNP zeigt die Tätigkeit des isolierten Herzens von Meerschweinchen eine langsam eintretende Pulszahlabnahme (M. Aloisi[21]). Die Abnahme des Schlagvolumens nach DNP beschrieben E. und A. Nyman[22]. Nach Staub und Mezey[23] wird durch auf 1 : 1000000 verdünntes DNP die Tätigkeit des Froschherzens schon geschädigt. In unseren eigenen Versuchen fanden wir noch stärker verdünntes DNP (1 : 10000000) schädigend auf den Kreislauf der Katzen; der Blutdruck sank sofort bedeutend ab und kam nur langsam wieder auf den Normalwert zurück und noch

---

[15] Leulier u. G. Bérnard: C. r. Soc. Biol. Paris **120**, 650—651 (1935). — [16] Sarzana, P.: Riv. Pat. sper. II. **6**, 123—138 (1936). — [17] Riddle, A., u. G. C. Smith: J. of Pharmacol. **55**, 173—178 (1935). — [18] Zummo, C.: Arch. internat. Pharmacodynamie **51**, 450—462 (1935). — [19] Tcherkess, A., W. Melnikowa u. S. Doubachinskava: Eksp. Med. Nr. 2, S. 43—55 (1935). — [20] Freemann, H.: J. of Pharmacol. **51**, 477—481 (1934). — [21] Aloisi, M.: Boll. Soc. ital. Biol. spers. **10**, 746—748 (1935). — [22] Nyman, E., u. A. Palmlöv: Skand. Arch. Physiol. **72**, 166—174 (1935). — [23] Staub u. Mezey: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 52—56 (1935).

länger litt die systolische Kraft des Herzens. Auch Palmlöv betont die Herzschädigung nach DNP. Nach ihm kann die Steigerung des O_2-Verbrauches auf Wirkung des DNP wahrscheinlich damit in Zusammenhang gebracht werden, daß dadurch mehr Kapillaren mit Blut gefüllt werden. Den Grund der peripherischen Wirkung des DNP würde einfach dies bieten.

Die DNP-Wirkung ist, obwohl sie peripherisch erscheint, von den Nervenwirkungen doch nicht unabhängig. Auch Gaetani[24] nimmt an, daß neben der sich auf die Gewebe richtenden direkten Wirkung das DNP wahrscheinlich auf das vegetative Nervensystem auch eine indirekte Wirkung ausübt.

Da das Quercitrin den parasympathischen zentralen Tonus steigert, können wir daran denken, daß es die Wärmeproduktion herabsetzt und die Wärmeabgabe steigert und das seine antagonistische Wirkung zu der DNP-Vergiftung darin besteht. Auf Grund unserer älteren Versuche können wir die Möglichkeit, daß das Quercitrin die Wärmeabgabe zu steigern vermöge, nicht mit Recht annehmen, weil es z. B. die Ohrkapillaren verengt und die Darmtraktkapillaren erweitert. Die andere, auf die Wärmeproduktion sich beziehende Möglichkeit bleibt aber bestehen, nachdem der O_2-Verbrauch der sogenannten „Rückenmarktiere" auf elektrische Reizung der N. vagi abnimmt (H. Gremels und F. Zinnitz[25]). Scheinbar aber können durch die Reizung des Vagus und die Verabreichung des DNP verschiedene oxydative Vorgänge beeinflußt werden. Darauf weist wenigstens die Mitteilung von Garrey und Boykin[26] hin. Nach ihrer Meinung bestehen die oxydativen Vorgänge im Herzen aus zwei Teilen. Der eine Teil ist durch DNP beeinflußbar, aber am Wege der Vagusreizung nicht. Der zweite Teil der oxydativen Vorgänge kann nur durch Vagusreizung gehemmt werden.

Wenn wir die Wirkung der vagomimetischen Stoffe betrachten, so sehen wir, daß weder das Pilocarpin, noch das Atropin die Wirkung des DNP augenfällig beeinflußt. De Biasio[27] kam z. B. bei Ratten und Meerschweinchen zu völlig negativen Ergebnissen. In unseren eigenen Versuchen konnten wir beobachten, daß das Atropin die Entwicklung der DNP-Wirkung nur einigermaßen verzögerte. Dagegen fand de Biasio am isolierten Darmstück, daß das DNP die Reizbarkeit der Vagusendigungen vermindert und wenn diese Wirkung eintrat, reagierten die sympathischen Nervenendigungen des Darmes auf Ergotamin nicht. Daraus schließt er, daß das DNP eine amphotrope neuromimetische Wirkung ausübt. Er beschrieb auch, daß das DNP-Fieber weder durch subcutan

[24] Gaetani, G. F.: Riv. Pat. sper. Nr. 8, S. 428—441 (1938). — [25] Gremels, H., u. F. Zinnitz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 1, 2 (1937). — [26] v. Garrey u. Boykin: Amer. J. Physiol. **111**, 196—200 (1935). — [27] De Biasio, Br.: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **10**, 383—385 (1935).

gereichtes Papaverin (0,02—0,08 g/kg), noch durch Perparin (0,01 bis 0,04 g/kg) herabgesetzt werden kann.

F. Sternson und W. I. Sila[28] meinen, daß die DNP-Wirkung teilweise zentraler Herkunft ist. Nach ihnen hat das DNP wahrscheinlich auch eine auf das Atmungszentrum sich richtende direkte Wirkung. Darauf würde auch das hinweisen, daß die Atmungserregung durch eine große Gabe Morphin eventuell auch verhindert werden kann (W. Cutting und M. L. Tainter).

Auf die Bedeutung der Innervation haben auch die im Institut von Mansfeld durchgeführten Versuche hingewiesen. Die O_2-Aufnahme der frisch isolierten unteren Extremitäten des Hundes wurde durch DNP um 70—120% gesteigert (Nils Alswall, I. Scheff-Pfeiffer[29]). Wenn aber die Denervation der Extremität vor 7—8 Tagen stattgefunden hat, so verliert sie die Fähigkeit, um auf DNP-Zugabe mit der Steigerung der Oxydationen zu antworten (Nils Alswall und Mansfeld[30]).

Die von Kaulbach und Pick beschriebene „Novocain-Wärmeabnahme" bei Meerschweinchen kommt nach Nils Alswall, Mansfeld und Irene Scheff-Pfeiffer[31] durch die bei der Erweiterung der Epithelkapillaren hervorgerufene gesteigerte Wärmeabgabe zustande. Mit Thyroxin kann die Wärmeabnahme gehemmt werden, weil dasselbe nach ihrer Meinung wahrscheinlich eine zentrale Vasokonstriktorerregung hervorruft. Deshalb entwickelt sich die Wirkung des Thyroxins nicht, wenn wir das Rückenmark zwischen D_5 und D_8 durchschneiden. Das DNP hemmt aber auch nach der Durchschneidung des Rückenmarkes die „Novocain-Wärmeabnahme" (also auf Grund rein peripherischer Wirkung). Nachdem das Ergotamin die Vasokonstriktore lähmt, ist das Thyroxin bei gleichzeitiger Ergotaminverabreichung die „Novocain-Wärmeabnahme" zu hemmen imstande.

Die Wirkung des Ergotamins auf die DNP-Hyperthermie wurde von verschiedenen Autoren verschieden beschrieben. Nach E. Novák[32] verringert bei Mäusen 0,05—0,06 mg Ergotamin die stoffwechselsteigernde Wirkung von 2—4 mg/kg Thyroxin, aber die Wirkung des DNP (25 bis 35 mg/kg) beeinflußt es nicht. Damit steht Wishnofskys Beobachtung in Einklang. De Biasio konnte dagegen sehen, daß, wenn er Meerschweinchen 0,5—1,0 mg und Ratten 1,5—2,5 mg Ergotamin vorangehend verabreichte, dasselbe die Temperaturerhöhung hinausschiebt und sie abzuschwächen auch dann imstande ist, wenn es nachher gereicht wurde. Nach 0,5 mg Ergotaminverabreichung fand C. Zummo ähnliches Ergebnis.

---

[28] Sternson, F., W. I. Sila: Exper. Med. Nr. 5, S. 37—47 (1935). — [29] Alswall, Nils, u. I. Scheff-Pfeiffer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 296 (1937). — [30] Alswall, Nils, u. Mansfeld: Ebenda **185**, 93 (1937). — [31] Alswall, Nils, G. Mansfeld u. Irene Scheff-Pfeiffer: Ebenda **187**, 415, 486 (1937). — [32] Novák, E.: Ber. a. d. ges. Physiol. u. exper. Pharm. **94**, 666 (1936).

Die Wiederholung der Gabe bewirkte eine neuerliche vorübergehende Hemmung der DNP-Wirkung.

Die Bedeutung der sympathischen Innervation aus dem Gesichtspunkt der DNP-Wirkung kommt in den Versuchen von V. E. Hall und J. O. Culver[33] zur Erscheinung. Ihren Feststellungen nach kommt den visceralen sympathischen Bahnen bei der Entwicklung der DNP-Wirkung eine wichtige Rolle zu. Die genannten Autoren haben bei Katzen zuerst die splanchnischen Nerven unter dem Zwerchfell durchgeschnitten, worauf sie nach DNP-Verabreichung (10 mg/kg i. m.) das Ausbleiben der übrigens auftretenden Hyperglykämie beobachten konnten. Einesteils bleibt in diesem Falle die Erregung der gegen die Leber laufenden sympathischen Nervbahnen aus, anderenteils fällt die Steigerung der Adrenalinproduktion und deren hyperglykämisierende Wirkung weg. V. E. Hall und J. O. Culver meinen, daß das DNP den glykogenolytischen Mechanismus des sympathischen Zentrums auslöst.

Nerveneinwirkungen sind also imstande, die im Wesen peripherische Wirkung des DNP am mindesten zu beeinflussen. Nachdem nach den Versuchen von de Biasio das DNP die Reizbarkeit der Vagusendigungen verringert und nach unseren eigenen Befunden sich die Wirkung des Quercitrins teilweise in der Auslösung der zentralen Vaguserregung offenbart, kann nicht vollständig ausgeschlossen werden, daß die antagonistische Wirkung des Quercitrins und des DNP, wenigstens teilweise, auch auf dieser Grundlage erklärt sein könne. Wahrscheinlicher ist aber, daß die Entgegengesetztheit der beiden Stoffe hauptsächlich in bezug auf die peripherische Wirkung besteht. Durch das Quercitrin wird nämlich bei isolierten Herzversuchen die Elimination der Milchsäure beschleunigt, dagegen kann auf die Giftwirkung des DNP die Steigerung des Milchsäuregehaltes im Blute und den Geweben beobachtet werden. Mehrere Autoren nehmen an, daß auf DNP-Wirkung der die Milchsäureproduktion regulierende Wirkungsfaktor im gesunden Muskel aufgehoben wird, wodurch die glykolytischen Vorgänge fast an das Maximale gesteigert werden.

Zur Nachweisung der bezüglich des Gasstoffwechsels bestehenden Entgegengesetztheiten sind spezielle Versuche notwendig. Über unsere diesbezüglichen Untersuchungen werden wir abgesondert berichten.

B. Kalorimetrische Messungen.

Zwecks Ergänzung der mittels einfacher Temperaturmessungen gewonnenen Erfahrungen und der später zu behandelnden Respirationsstoffwechselversuche fanden wir auch die direkte Messung der Wärmeproduktion für angezeigt, um die Gegensätzlichkeit zwischen den Wirkungen des Quercitrins und des 1 : 2 : 4-α-Dinitrophenols um so klarer vor Augen haben zu können.

[33] Hall, V. E., u. J. O. Culver: Proc. Soc. exper. Biol. and Med. **37**, 220 (1937).

Methode und Versuchsanordnung.

Es wurde die Wärmeproduktion von fünf weißen Ratten (90—110 g) im kleinen Tierkalorimeter von v. Kries-d'Arsonval[34] gemessen. Bei unseren Versuchen fanden möglichst solche Tiere Verwendung, die sich während des Experiments ziemlich ruhig verhielten. Gelegentlich je einer Messung wurde die Wärmeproduktion dreimal in einstündiger Periode bestimmt. Zwischen den einzelnen Perioden machten wir eine Pause von 10 Minuten, um die Tiere möglichst zu schonen. Die Verhältnisse der Wärmeproduktion wurden so an den behandelten Tieren innerhalb 3 Stunden und 20 Minuten (vom Beginn der Behandlung an gerechnet) beobachtet. Die Resultate wurden folgendermaßen berechnet:

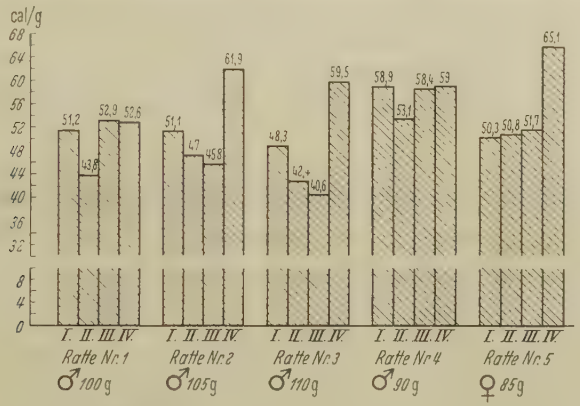


Abb. 11.

I. Wärmeproduktion in 3 Std. ohne Behandlung. Mittelwert von 2 Messungen.
II. „ „ 3 „ nach i. v. Verabreichung von 12 mg/kg Quercitrin
III. „ „ 3 „ „ „ „ „ „ 12 „ „ und 12 mg/kg Dinitrophenol.
IV. Wärmeproduktion in 3 Std. nach i. v. Verabreichung von 12 mg/kg Dinitrophenol.

Die entzogene Wärmemenge $= Mw \cdot d$, wenn Mw = Wassermenge in g und d die Temperatursteigerung des durchflossenen eiskalten Wassers bedeutet. Die so gewonnene Wärmemenge ist gleich der vom Tier abgegebenen Wärmemenge (Abb. 11).

Zuerst wurde die Wärmeproduktion eines jeden Tieres ohne jede vorherige Behandlung zweimal bestimmt, an zwei verschiedenen Tagen, 18 Stunden nach der letzten Fütterung (täglich 20 g Milch und 10 g Weißbrot). Aus dem Mittelwert der so gewonnenen zwei Zahlen wurden die normalen Verhältnisse der Wärmeproduktion bestimmt (die Kolumnen 1 in Abb. 11). Vor der am folgenden Tage vorgenommenen dritten Messung verabreichten wir (unmittelbar vor der Kalorimetrie) 12 mg/kg Quercitrin

[34] Abderhalden: Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Abt. IV, Teil 10, S. 844.

in die Bauchhöhle. Die so gewonnenen Resultate sind durch die Kolumnen 2 der Abb. 11 veranschaulicht.

10 Minuten vor dem Beginn der vierten Messung spritzten wir 12 mg/kg Quercitrin (Q) in die Bauchhöhle der Tiere und unmittelbar vor dem Einsetzen in den Apparat 12 mg/kg 1 : 2 : 4-α-Dinitrophenol (DNP). Diese Werte sind in den Kolumnen 3 der Abb. 11 dargestellt.

Gelegentlich der fünften Messung wurde die Wirkung des reinen Dinitrophenols beobachtet. Die Tiere erhielten unmittelbar vor dem Beginn des Versuchs 12 mg/kg DNP in die Bauchhöhle. Über diese Resultate orientieren uns die Kolumnen 4 der Abb. 11.

Die Diagramme geben über die dreimal während einstündiger Perioden insgesamt produzierten kleinen Kalorienwerte Auskunft, auf Körpergewichtgramme bezogen. Der dritte Teil dieser Werte gibt uns die auf 1 Stunde und auf 1 g Körpergewicht entfallenden kleinen Kalorienwerte an (oder auf 1 Stunde und auf ein Körperkilogramm entfallenden großen Kalorien).

Zusammenfassung und Erörterung der Versuchsergebnisse.

Die durch die unbehandelten Tiere während 1 Stunde pro Körpergewichtsgramm produzierte Wärmemenge war folgende:

Versuchstier Nr.	1	17,06 cal/g
„ „	2	17,03 „
„ „	3	16,1 „
„ „	4	19,63 „
„ „	5	16,76 „

Auf Einwirkung der Quercitrin-Behandlung ist die produzierte Wärmemenge bei vier Tieren (unter fünf) gesunken:

Bei dem	Tier	Nr.	1	war die	Verminderung	14,5 %	der	normalen	Periode
„ „	„	„	2	„ „	„	6,1 %	„	„	„
„ „	„	„	3	„ „	„	12,3 %	„	„	„
„ „	„	„	4	„ „	„	9,9 %	„	„	„

Die Wärmeproduktion des Tieres Nr. 5 blieb auf Quercitrin fast unverändert.

Die Steigerung der Wärmeproduktion auf DNP-Behandlung war bei einem Tier (Nr. 4) unbedeutend, bei einem anderen Tier (Nr. 1) bewegte sie sich ebenfalls innerhalb der Fehlergrenzen der Experimente. Bei den übrigen drei Tieren war die Steigerung der Wärmeproduktion bedeutender. Die Wärmeproduktion der Ratte Nr. 2 war um 12,11 % stärker als in der unbehandelten Periode. Die Wärmeproduktion der Ratte Nr. 3 war um 12,31 % stärker als in der unbehandelten Periode. Die Wärmeproduktion der Ratte Nr. 5 war um 12,94 % stärker als in der unbehandelten Periode.

Wenn vor der DNP-Behandlung Quercitrin (Q) verabreicht wurde, konnte durch diese Behandlungsart bei zwei Tieren die durch DNP ver-

ursachte gesteigerte Wärmeproduktion nicht wesentlich verändert werden (die Tiere Nr. 1 und 4). Bei den übrigen drei Tieren unterdrückte jedoch die Quercitrinbehandlung den Effekt des DNP.

Derart war die Wärmeproduktion der Ratte Nr. 2 nach Q- und DNP-Behandlung um 26,02% geringer wie nach bloßer DNP-Behandlung; die Wärmeproduktion der Ratte Nr. 3 war nach Q- und DNP-Behandlung um 30,10% geringer wie nach bloßer DNP-Behandlung; die Wärmeproduktion der Ratte Nr. 5 war nach Q- und DNP-Behandlung um 20,59% geringer wie nach bloßer DNP-Behandlung.

Das DNP wurde rein deshalb zuletzt gegeben, weil — wie bekannt — die Zeichen der Gewöhnung nach DNP-Vergiftung sehr rasch beobachtet werden können. Bereits die zweite Anwendung ist bei den überlebenden Tieren nach vorangehender Intoxikation von geringerem Effekt begleitet. Wenn wir zuerst die Wirkung des reinen DNP studiert und das Quercitrin nur in den folgenden Versuchen zur Anwendung gebracht hätten, könnte man einwenden, daß die mildere DNP-Wirkung der wiederholten Anwendung zuzuschreiben ist. Im Laufe unserer Untersuchungen konnten auch wir an zwei Tieren (Nr. 1 und 4) beobachten, daß das wiederholt, das zweitemal rein zur Anwendung gekommene DNP keine gesteigerte Wärmeproduktion zur Folge hatte. Auch bei den übrigen drei Tieren wäre die wärmeproduktionssteigernde Wirkung des DNP jedem Anschein nach bedeutender gewesen, wenn es bereits das erstemal allein zur Anwendung gekommen wäre. So war aber die Zunahme der Wärmeproduktion nach DNP nur mäßig (etwa 12%). Deshalb war auch nur ein milderer Antagonismus zwischen den Q- und DNP-Wirkungen zu beobachten. Mit Rücksicht auf die Gewöhnung mußten wir uns aber lieber mit diesem Nachteil abfinden. Trotz der mitigierten Resultate läßt sich sagen, daß

1. Quercitrin in 12 mg/kg-Menge den normalen Wert der Wärmeproduktion bei weißen Ratten um 6—14,5% herabsetzt.

2. Das Quercitrin setzt bei gleicher Dosis um 26—30% die Hyperthermie verursachende Wirkung des DNP herab.

3. Die Gegensätze könnten noch ausgeprägter sein, wenn die wiederholte Verabreichung des DNP keine Gewöhnung nach sich ziehen würde.

Zusammenfassung.

1. Die Temperatur der Ratten (150—180 g) wird durch 12 mg/kg Quercitrin in 10—90 Minuten mäßig (0,6—1,1° C) herabgesetzt. Die Wirkung verschwindet ungefähr in 3 Stunden.

2. 12 mg/kg 1 : 2 : 4-α-Dinitrophenol (DNP) ruft bei Ratten in 10 Minuten fieberhafte Temperaturerhöhung hervor. Die Erhöhung kann 0,4—2,4° C aufweisen und dauert ungefähr $3^1/_2$ Stunden hindurch.

3. Das Quercitrin verringert auch das durch DNP verursachte Fieber, die Wirkung des DNP wird vorübergehend vollkommen auf-

gehoben, die Temperatur sinkt sogar unter die Norm. Der eine Teil der Wirkung entwickelt sich erst später. Die nachgehende Temperatursteigerung bleibt noch in der vierten Stunde nach der Injektion bestehen.

4. Das Quercitrin verhindert auch die Entwicklung des „Atropinfiebers".

5. Die DNP-Hyperthermie wird durch Atropin nicht verhindert. Nur später (nach ungefähr 90 Minuten) beginnt die Temperaturerhöhung und erreicht das Maximum in 2—3 Stunden. Durch Atropin wird auch die Quercitrinwirkung nicht aufgehoben. Atropin verändert auch die sich auf die DNP-Hyperthermie beziehende Quercitrinwirkung nicht. Das Quercitrin hemmte auch in diesem Falle die Wirkung des DNP, die Temperatur der Tiere (mit Ausnahme von einem) blieb sogar durch 3 Stunden hindurch unter der Norm. Die Ausschaltung der parasympathischen Innervation führt also nicht zum Aussetzen der antagonistischen Wirkung des Quercitrins auf das DNP. Der Angriffspunkt des Quercitrins auf den Wärmehaushalt kann also — ähnlich dem DNP — an der Peripherie angenommen werden.

6. Messung der Wärmeproduktion im kleinen Kalorimeter von v. Kries-d'Arsonval bei fünf weißen Ratten (90—110 g). Dreimal einstündige Perioden. Dazwischen 10 Minuten Pausen.

7. Quercitrin (12 mg/kg) setzt die normale Wärmeproduktion der Tiere um 6—14,5% herab.

8. Die wärmeproduktionssteigernde Wirkung des 1 : 2 : 4-α-Dinitrophenols (12 mg/kg) wurde bei drei unter fünf Tieren durch das verabreichte Quercitrin gehemmt. Auf simultane Wirkung des Q und DNP war die Wärmeproduktion um 20—30% geringer als später auf reine DNP-Wirkung. Diese verringernde Wirkung wäre höher anzuschlagen, wenn sie nicht mit dem Effekt des wiederholt zur Anwendung gelangten DNP zu vergleichen wäre. (Mildere Wirkung infolge der Gewöhnung.)

Mitteilung aus dem Pharmakol. Institut der Königl. Ungar. Tisza István-Universität in Debrecen (Ungarn). (Direktor: Prof. Dr. A. v. Jeney.)

Die antagonistische Wirkung des Quercitrins und 1:2:4 α-Dinitrophenols auf den Atmungsstoffwechsel der Ratten.

Von

A. v. Jeney und **T. Vályi-Nagy.**

(Eingegangen am 5. Oktober 1938.)

In unserer vorigen Arbeit[1] haben wir mitgeteilt, daß der Flavonfarbstoff, das Quercitrin (Q) die Temperatur der Ratten vorübergehend mäßig herabsetzt und sogar das durch das 1 : 2 : 4 α-Dinitrophenol (DNP) verursachte Fieber für einige Zeit aufhebt, so daß dessen Wirkung nur teilweise und verschoben zur Erscheinung kommt.

Nach diesen schien es zweckmäßig, auch solche Versuche durchzuführen, wo wir bei ähnlichen Versuchsbedingungen dem Atmungsstoffwechsel der Versuchstiere nachgehen können.

Methodik.

Wir haben unsere Versuche an 140—150 g schweren weißen Rattenmit Hilfe des von Prof. Issekutz (Budapest) modifizierten, vergrößerten Warburgschen Respirationsapparat durchgeführt. Die Ratten bekamen durch 24 Stunden hindurch vor dem Versuch keine Nahrung. Sie wurden immer täglich einmal, nach der Beendigung des Versuchs, mit 20 g Milch und 10 g Weißbrot gefüttert. Jeder Versuch dauerte $1^1/_2$ Stunden. Von dieser Zeit dienten 30 Minuten dazu, daß die das Tier enthaltende Metallkammer und deren Luft die Temperatur des Wasserbades aufnehme (28° C). Die eigentliche Beobachtungszeit dauerte also 60 Minuten. Die Messung des O_2-Verbrauchs geschah jede 10 Minuten, also machten wir während der einstündigen Beobachtungszeit sechs Messungen. Nach den einzelnen Messungen haben wir den verbrauchten O_2 aus einer Sauerstoffbombe ersetzt. In derselben Zeit arbeiteten wir mit zwei Apparaten, und in jedem Falle maßen wir die O_2-Aufnahme von zwei, womöglich gleich schweren Tieren. Von den zwei Tieren blieb das eine unbehandelt, um neben dem anderen Tier als Kontrolle zu dienen. Das Ablesen und die Berechnung der Ergebnisse geschah nach der von Issekutz angegebenen Methode. Aus den sechs Ablesungen haben wir in jedem Versuche einen durchschnittlichen 10 Minuten-Wert festgestellt. Bei der Berechnung dieses Mittel-

[1] Jeney, A. v., L. Ari u. P. Baranyai: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 407 (1938).

wertes wurde jene 10 Minuten-Periode nicht in Betracht gezogen, welche in Vergleich mit den übrigen Perioden eine sprunghafte Abweichung zeigte (wegen der Bewegung des Tieres; siehe angegebenes Beispiel*). Wenn das Tier mehr als während einer 10 Minuten-Periode unruhig war, haben wir den Versuch nicht bewertet.

Versuchsergebnisse.

I.

Vor allem haben wir den Grad des O_2-Verbrauchs während 10 Minuten an acht gesunden, unbehandelten, 140—150 g schweren weißen Ratten studiert. Einen solchen unserer Versuche geben wir als Beispiel ausführlich an.

17. V. 1938.

Tier „B". Körpergewicht: 140 g.			Tier „b". Körpergewicht: 140 g.		
Zeit	h_1	O_2-Verbrauch in ccm	Zeit	h_2	O_2-Verbrauch in ccm
0—10'	88	30,518	0—10'	86	29,687
10—20	75	26,010	10—20	99	34,174
20—30	88	30,518	20—30	91	31,413
30—40	90	31,212	30—40	92	31,758
40—50	97	33,639	40—50	83	28,651
50—60	88	30,518	50—60	126	43,495*
		182,415 : 6			155,683 : 5
	Im Mittelwert:	30,402 ccm		Im Mittelwert:	31,136 ccm
Auf 1 g Tier: 1,301 ccm O_2-Aufnahme.			Auf 1 g Tier: 1,297 ccm O_2-Aufnahme		

* Nicht gerechnet.

Auf Grund der an acht Tieren durchgeführten 28 Messungen kann festgestellt werden, daß der O_2-Verbrauch der 140—150 g schweren weißen Ratten im Ruhestand in je 10 Minuten 30—32 ccm ergibt; auf 1 g Körpergewicht berechnet, entspricht dies einem durchschnittlichen O_2-Verbrauch von 1,348 ccm (siehe zusammenfassende Tabelle, I. Reihe).

II. Die Wirkung des Quercitrins auf den Atmungsstoffwechsel.

Die Q-Lösung (1 : 1000) wurde mit heißem Wasser bzw. heißer physiologischer NaCl-Lösung hergestellt. Die auf Körperwärme abgekühlte Lösung haben wir am meisten intraperitoneal, in einigen Fällen unter die Haut verabreicht. Auf Grund unserer vorigen Versuche gaben wir je einem Tier 12 mg/kg Quercitrin. Die auf einmal zugeführte Flüssigkeitsmenge schwankte zwischen 1,8 und 2,0 ccm. Als Beispiel geben wir einen unserer Versuche ausführlich an.

Auf Grund von 10 an 7 Tieren durchgeführten Bestimmungen fanden wir, daß nach vorheriger Verabreichung von 12 mg/kg Quercitrin der

23. IV. 1938.

Tier „A". Körpergewicht: 135 g. Vor dem Versuch bekam es 12 mg/kg Quercitrin intraperitoneal in 1,8 ccm Flüssigkeitsmenge.			Tier „a". Körpergewicht: 130 g. Vor dem Versuch bekam es 1,8 ccm phys. NaCl-Lösung zur Kontrolle intraperitoneal.		
Zeit	k_1	O_2-Verbrauch in ccm	Zeit	k_2	O_2-Verbrauch in ccm
0—10′	87	29,858	0—10′	93	31,415
10—20	61	20,935	10—20	91	30,740
20—30	119	40,831*	20—30	89	30,064
30—40	63	21,622	30—40	90	30,402
40—50	56	19,219	40—50	85	28,713
50—60	100	34,320	50—60	80	27,024
		125,954 : 5			178,358 : 6
	Im Mittelwert:	1,136 ccm		Im Mittelwert:	29,8 ccm
Auf 1 g Tier 1,136 ccm O_2-Aufnahme.			Auf 1 g Tier 1,37 ccm O_2-Aufnahme.		

* Nicht gerechnet.

O_2-Verbrauch der Ratten in 10 Minuten, auf 1 g Körpergewicht berechnet, im Durchschnitt 1,246 ccm war (siehe zusammenfassende Tabelle II. Reihe).

III. Die Wirkung des 1:2:4 α-Dinitrophenols auf den Atmungsstoffwechsel.

Von dem DNP gaben wir auch 12 mg/kg in physiologischer NaCl-Lösung gelöst intraperitoneal. Wir injizierten von einer auf 1 : 1000 verdünnten Lösung 1,8—2,2 ccm.

Als Beispiel teilen wir einen Versuch ausführlich mit.

31. V. 1938.

Tier „A". Körpergewicht: 165 g. Kontrolle.			Tier „a". Körpergewicht: 155 g. Während des Versuchs bekam es 12 mg/kg DNP intraperitoneal.		
Zeit	k_1	O_2-Verbrauch in ccm	Zeit	k_2	O_2-Verbrauch in ccm
0—10′	95	31,830	0—10′	120	40,200
10—20	87	29,058	10—20	172	57,620
20—30	113	37,742	20—30	144	48,240
30—40	95	31,730	30—40	147	49,245
40—50	105	35,070	40—50	157	52,595
50—60	120	40,080*	50—60	159	53,265
		165,330 : 5			301,165 : 6
	Im Mittelwert:	33,066 ccm		Im Mittelwert:	50,194 ccm
Auf 1 g Tier 1,00 ccm O_2-Aufnahme.			Auf 1 g Tier 1,94 ccm O_2-Aufnahme.		

* Nicht gerechnet.

Bei dem „a"-Tier steigerte also 12 mg/kg DNP den O_2-Verbrauch in 10 Minuten mit 75,8 %. Nachdem die Tiere auf die DNP-Wirkung die Zeichen einer auffallend raschen Gewöhnung, oft schon bei der zweiten Anwendung aufweisen, haben wir nur die bei der ersten Anwendung er-

reichten DNP-Wirkungen verwertet. Bei 6 Tieren haben wir in je 6 Fällen die Wirkung des zum erstenmal gereichten 12 mg/kg DNPs beobachtet. Der Durchschnitt der O_2-Verbrauchswerte in 10 Minuten war, auf 1 g Körpergewicht berechnet, 2,054 ccm (siehe zusammenfassende Tabelle, III. Reihe).

IV. Die gemeinsame Wirkung des Quercitrins und Dinitrophenols auf den Atmungsstoffwechsel.

In dieser Versuchsreihe haben wir 15—20 Minuten vor der DNP-Verabreichung (12 mg/kg) intraperitoneal 12 mg/kg Quercitrin injiziert.

Als Beispiel dient der unten ausführlich angegebene Versuch:

11. VI. 1938.

Tier „C". Körpergewicht: 130 g. 12 mg/kg DNP intraperitoneal.			Tier „c". Körpergewicht: 135 g. Quercitrin 12 mg/kg unter die Haut; nach 15 Min. (zu Beginn des Versuchs) 12 mg/kg DNP.		
Zeit	h_1	O_2-Verbrauch in ccm	Zeit	h_2	O_2-Verbrauch in ccm
0—10′	181	63,169	0—10′	137	46,813
10—20	165	57,858	10—20	140	47,838
20—30	138	48,162	20—30	131	44,762
30—40	151	50,699	30—40	130	44,421
40—50	143	49,907	40—50	115	39,295
50—60	135	47,115	50—60	95	32,462
		316,447 : 6			255,591 : 6
	Im Mittelwert:	52,741 ccm		Im Mittelwert:	42,598 ccm
Auf 1 g Tier 2,42 ccm O_2-Aufnahme.			Auf 1 g Tier 1,889 ccm O_2-Aufnahme.		

Den Atmungsstoffwechsel im Ruhestand haben wir sowohl beim Tiere „C" wie beim Tiere „c" auf Grund von je drei vorher durchgeführten Messungen festgestellt. Der Durchschnittswert des O_2-Verbrauches der drei Untersuchungen war beim Tier „C" 33,143 ccm und beim Tiere „c" 31,790 ccm. Wenn wir diese Werte mit den obigen Angaben vergleichen, so finden wir, daß der O_2-Verbrauch des „C"-Tieres auf Wirkung des DNPs mit 79,4% gestiegen ist. Der O_2-Verbrauch des Tieres „c" aber, welches neben derselben Gabe DNP vorher auch noch 12 mg/kg Quercitrin bekam, zeigte nur eine Steigerung von 66,8%.

Ähnliche Versuche wurden an sieben Tieren neunmal durchgeführt. Der durchschnittliche O_2-Verbrauch der Tiere war in 10 Minuten, auf 1 g Körpergewicht, berechnet 1,680 ccm (siehe zusammenfassende Tabelle, IV. Reihe).

Daß auch die Wirkung der Injektion selbst auf den Atmungsstoffwechsel kontrolliert werden kann, bekamen 7 Tiere in 9 Versuchen dieselbe Menge physiologische NaCl-Lösung (1,8—2,8—3—6 ccm) subcutan bzw. intraperitoneal eingespritzt, wieviel Flüssigkeit wir den behandelten Tieren während den Injektionen insgesamt gaben.

Das Durchschnittsergebnis dieser Versuche war, daß die Tiere einen O_2-Verbrauch in 10 Minuten, auf 1 g Körpergewicht berechnet, von 1,397 ccm aufwiesen, also kaum etwas mehr als die auch mit den indifferenten Lösungen nicht behandelten Kontrolltiere (1,348 ccm/g).

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Wegen näherer Übersicht und Feststellung der Bewertbarkeit unserer Versuche haben wir die auf 1 g Tier sich beziehenden 10 Minuten-O_2-Verbrauchswerte in den unten angegebenen Tabellen zusammengefaßt:

Tabelle 1. Atmungsstoffwechsel von Ratten unter der Wirkung von Quercitrin (Q) und Dinitrophenol (DNP).

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Nr.	Zeichen der Tiere	Zahl der auf einem Tiere durchgeführten Versuche	O_2-Verbrauch auf 1 g Tier 10-minütlich in ccm			
			I. unbehandelt	II. Auf Wirkung von 12 mg/kg Q	III. Auf Wirkung von 12 mg/kg DNP	IV. Auf Wirkung von 12 mg/kg Q + 12 mg/kg DNP
1	„A“	2—5	1,354	1,44	2,04	1,63
2	„a“	2—5	1,276	1,261	1,70	1,44
3	„B“	2—4	1,34	1,21	—	1,57
4	„b“	2—4	1,357	1,16	1,96	—
5	„C“	2—3	1,396	—	2,425	1,88
6	„c“	2—3	1,343	1,23	2,17	1,77
7	„D“	2	1,40	1,24	—	1,901
8	„d“	2	1,32	1,18	2,03	1,57
		Mittelwert:	$m_I = 1{,}348$	$m_{II} = 1{,}246$	$m_{III} = 2{,}054$	$m_{IV} = 1{,}680$

Tabelle 2. Auswertung der Resultate.

	I.	II. Q	III. DNP	IV. Q + DNP
Mittelwert	$m_I = 1{,}348$	$m_{II} = 1{,}246$	$m_{III} = 2{,}054$	$m_{IV} = 1{,}680$
Mittl. Abweichung $\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n-1}} =$	$\sigma_I = 0{,}0402$	$\sigma_{II} = 0{,}0924$	$\sigma_{III} = 0{,}239$	$\sigma_{IV} = 0{,}173$
Mittlerer Fehler: $\varepsilon = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} =$	$\varepsilon_I = 0{,}0142$	$\varepsilon_{II} = 0{,}0349$	$\varepsilon_{III} = 0{,}030$	$\varepsilon_{IV} = 0{,}065$
Wahrsch. Fehler (P.E.): $= 0{,}6745\,\sigma =$	$P.E._I = 0{,}0271$	$P.E._{II} = 0{,}0623$	$P.E._{III} = 0{,}161$	$P.E._{IV} = 0{,}117$
Die Streuung der Werte: $\frac{\varepsilon \cdot 100}{m} =$	1 %	2,7 %	1,4 %	3,8 %
Das %ige Verhältnis des O_2-Verbrauches in den einzelnen Versuchsreihen	100 %	92,4 % (− 7,6 %)	152,3 % (+ 52,3 %)	124,6 % (+ 24,6 %)

Die Streuung der Werte ist also in allen vier (I.—IV.) Versuchsreihen gering (1—3,8%). Um jenes Intervall festzustellen, in welches die Reaktion der 21 Tiere von 22 Tieren fällt (beim O_2-Verbrauch), haben wir die $m \pm 2\varepsilon$-Werte berechnet.

Diese sind die folgenden:

In der	I. Versuchsreihe	1,320—1,376
„ „	II. „	1,178—1,314
„ „	III. „	1,994 -2,114
„ „	IV. „	1,550—1,980

Hieraus sehen wir, daß das Intervall keiner Versuchsreihe die Teile des Intervalls irgendeiner anderen Versuchsreihe enthält. Daraus können wir folgern, daß, wenn wir je 22 Versuche durchgeführt hätten, auch dann es nur in je einem Falle hätte vorkommen können, daß in den Ergebnissen die Differenz wegen der Auswahl der Tiere entstehe.

So können also die gefundenen Differenzen zwischen den Ergebnissen der einzelnen Versuchsreihen mit der verschiedenen Wirkung der angewandten Stoffe erklärt werden.

Unsere bisherigen Folgerungen können auch durch die Berechnung der signifikanten Differenzen unterstützt werden. Zu diesem Zwecke berechnen wir zuerst die signifikante Differenz zwischen den Ergebnissen der I., und der II., III., IV. Versuchsreihe, sodann zwischen der II. und der III., IV. und endlich zwischen der III. und IV. Versuchsreihe.

Auf diese Weise finden wir folgendes:

$$\frac{m_I - m_{II}}{\sqrt{\varepsilon_I^2 + \varepsilon_{II}^2}} = \frac{0{,}102}{0{,}037} > 2; \quad \frac{m_{II} - m_{III}}{\sqrt{\varepsilon_{II}^2 + \varepsilon_{III}^2}} = \frac{0{,}808}{0{,}103} > 7,$$

$$\frac{m_I - m_{III}}{\sqrt{\varepsilon_I^2 + \varepsilon_{III}^2}} = \frac{0{,}706}{0{,}098} > 7; \quad \frac{m_{II} - m_{IV}}{\sqrt{\varepsilon_{II}^2 + \varepsilon_{IV}^2}} = \frac{0{,}434}{0{,}074} > 5,$$

$$\frac{m_I - m_{IV}}{\sqrt{\varepsilon_I^2 + \varepsilon_{IV}^2}} = \frac{0{,}332}{0{,}066} > 5; \quad \frac{m_{III} - m_{IV}}{\sqrt{\varepsilon_{III}^2 + \varepsilon_{IV}^2}} = \frac{0{,}374}{0{,}117} > 3.$$

Nachdem die signifikante Differenz in jedem Falle größer ist als 2 ist die Differenz der in den einzelnen Versuchsreihen beobachteten Wirkung bedeutend. Die Differenz ist nicht durch Zufall entstanden. So ist im Falle, wenn der Wert der signifikanten Differenz höher ist als 5, von 100000 Fällen insgesamt nur bei 67 eine Mitwirkung des Zufalls zu erwarten, und auch im Falle eines höheren signifikanten Differenzwertes als 2 kann beim Entstehen der gefundenen Differenz der Zufall nur in 177 Fällen von 1000 vorkommen.

Folgerungen.

1. Auf Grund des Gesagten können wir feststellen, daß das Quercitrin (12 mg/kg) den Atmungsstoffwechsel der normalen Tiere mäßig (7,6%) herabsetzt. In den Atmungsstoffwechselversuchen werden zwar nur die

höher als 10 %igen Differenzen bewertet, doch ist die Tendenz der Wirkung auch so entschieden zu erkennen.

2. Das 1 : 2 : 4 α-DNP (12 mg/kg) hatte den Atmungsstoffwechsel der Ratten um 52,3 % gesteigert. Diese Steigerung war aber wesentlich geringer (im Durchschnitt 24,6 %), wenn die Tiere vor dem DNP mit Quercitrin (12 mg/kg) behandelt wurden.

3. Dieses Ergebnis steht in Zusammenklang mit den Beobachtungen, die wir auf Wirkung derselben Stoffe bezüglich der Wärmeproduktion bei den Ratten beobachten konnten.

Zusammenfassung.

1. Atmungsstoffwechseluntersuchungen bei 140—150 g schweren Ratten mit Hilfe des durch Issekutz modifizierten Warburgschen Respirationsapparates. Wasserbadtemperatur 28 C°; Beobachtungszeit je 10 Minuten.

2. Nach den an acht Tieren wiederholt durchgeführten Versuchen wird der Atmungsstoffwechsel der normalen Tiere nach 12 mg/kg Quercitrin im Durchschnitt um 7,6 % verringert.

3. 12 mg/kg 1 : 2 : 4 α-Dinitrophenol verursachte durchschnittlich 52,3 %ige Steigerung. Wenn wir den Tieren vorher 12—18 mg/kg Quercitrin injizierten, so nahm die Steigerung bedeutend ab und ergab nur 24,6 %. Demnach ist der Antagonismus zwischen der Quercitrin- und der DNP-Wirkung auch bezüglich des Atmungsstoffwechsels feststellbar.

4. Auf Wirkung des Quercitrins und DNPs fanden wir in früheren Versuchen ähnliche Veränderungen auch in dem Wärmehaushalt der Ratten.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Pécs.

Stoffwechselwirkung des thyreotropen Hormons am Kaltblüter.

Von

Anna Lánczos.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 29. Oktober 1938.)

Die für die vergleichende Physiologie und für die Physiologie der Wärmeregulation bedeutsame Frage, ob die Schilddrüse beim Kaltblüter ähnlich wirkt wie beim Warmblüter, wurde auf Grund der negativen Ergebnisse einiger Autoren in dem Sinne entschieden, daß der Schilddrüse beim voll entwickelten Kaltblüter keine Stoffwechselwirkung zukommt. Es haben nämlich Abderhalden und Wertheimer[1], Henschel und Steuber[2], Drexler und Issekutz jun.[3] in ihren Versuchen eine Wirkung der Schilddrüse und des Thyroxins auf Gewicht, Kohlehydrat- und Gasstoffwechsel bei Kaltblütern vermißt, und nach diesen Befunden wurde allgemein angenommen, daß die Funktion der Schilddrüse sich beim Kaltblüter nur auf ihren vielfach erwiesenen Einfluß auf die Metamorphose beschränkt.

Nun wäre aber zu erwarten, daß ein solches Verhalten der Schilddrüse sich auch morphologisch kundgibt und dieses Organ nach der Metamorphose des Tieres Zeichen einer Funktionseinstellung und Rückentwicklung aufweist. Es zeigten jedoch ausgedehnte histologische Untersuchungen zahlreicher Zoologen[4], daß dies keineswegs der Fall ist und die Kaltblüterschilddrüse vielmehr das histologische Bild einer lebhaften Tätigkeit darbietet. Es konnte ferner die interessante Feststellung gemacht werden, daß die Schilddrüse des Kaltblüters jahreszyklischen Veränderungen unterworfen ist, welche gleichsinnig mit den jahreszyklischen Veränderungen des Stoffwechsels verlaufen. So wird beim Frosch im Winter gleichzeitig mit der Einschränkung der Lebensfunktionen das Kolloid nicht in die Blutbahn abgegeben, sondern in der Drüse gestaut, während im Frühjahr auch die Kolloidanhäufung in der Drüse aufhört, um erst im Spätherbst wieder einzusetzen.

---

[1] Abderhalden, E., u. E. Wertheimer: Pflügers Arch. **219**, 588 (1928). — [2] Henschel, H., u. M. Steuber: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **160**, 401 (1931). — [3] Drexler, E., u. B. v. Issekutz, jun.: Ebenda **177**, 435 (1935). — [4] Sklover, A.: Z. vergl. Physiol. **2**, 474 (1925); M. Meisenheimer: Z. Zool. **148**, 261 (1936); angef. nach B. Eggert: Morph. u. Histophysiol. der norm. Schilddrüse. Leipzig, Joh. Ambrosius Barth, 1938. Ebenda auch weitere Literatur.

Diese bemerkenswerten histologischen Befunde weisen darauf hin, daß die Schilddrüse des Kaltblüters auch nach der Metamorphose tätig ist und so mußte die Frage aufgeworfen werden, in welcher Wirkung diese Tätigkeit sich äußert. Da — wie Mansfeld und Mitarbeiter gezeigt haben[5] — das Thyroxin hauptsächlich die Eiweißspaltungen beeinflußt, schien es aussichtsreich, auch die Wirkungen der Kaltblüterschilddrüse auf dem Gebiet des Eiweißstoffwechsels zu suchen, und es konnte von uns[6] tatsächlich gezeigt werden, daß das Thyroxin die N-Ausscheidung von Fröschen zu steigern vermag.

Nun ist es durch zahlreiche Untersuchungen des letzten Jahrzehnts bekannt, daß das thyreotrope Hormon des Hypophysenvorderlappens ähnliche Stoffwechselwirkungen wie die Schilddrüse ausübt, welche Wirkungen auf dem Wege über die Thyreoidea ausgelöst werden und durch eine Ausschüttung des Sekrets derselben bedingt sind[7]. So haben wir, um unsere Ergebnisse zu ergänzen und die Stoffwechselwirkung der Schilddrüse beim Kaltblüter weiter zu verfolgen, nunmehr geprüft, wie das thyreotrope Hormon die N-Ausscheidung des Frosches beeinflußt.

Dies zu untersuchen schien uns um so mehr angebracht, da ja unsere Thyroxinversuche nur die Wirksamkeit von außen zugeführtem Schilddrüsenhormons beim Kaltblüter zeigten, während die Wirkung vom thyreotropen Hormon über die Funktion der Kaltblüterschilddrüse selbst Aufschluß geben mußte. Über das Ergebnis dieser Versuche soll im folgenden berichtet werden.

Versuche und Versuchsergebnisse.

Versuchsanordnung.

Die Versuche haben wir vom August 1936 bis August 1938 an Ranae esculentae ausgeführt. Jedes Tier wurde einzeln in einem Einmachglas von 18 cm Höhe und 12 cm Durchmesser gehalten, an dessen Boden 60—80 ccm Wasser war, so daß das Tier bequem ohne jede Anstrengung aufrecht sitzend atmen konnte. Das Gefäß war durch einen mit Luftlöcher versehenen fest aufsitzenden Blechdeckel abgeschlossen. Die Sammlung des Harns erfolgte 48stündlich so, daß wir das Tier katheterisierten und den so gewonnene Harn mit der im Gefäß befindlichen Flüssigkeit vereinigten. In der mit Uranylacetat enteiweißten Flüssigkeit führten wir dann die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl aus. Nach dem Katheterisieren wurde der Frosch gewaschen und in das mit frischem Leitungswasser beschickte Gefäß zurückgesetzt. Die Gläser wurden meistens im Keller gehalten, um eine möglichst gleichmäßige Temperatur zu sichern. In einigen Versuchen hielten wir die Tiere in einem Zimmer von konstanter Temperatur. Auf diese Weise gelang es, die Tiere monatelang in gutem Zustand zu erhalten.

Einige Frösche zeigten eine ungleichmäßige N-Ausscheidung, diese haben wir zu den Versuchen nicht weiter verwendet und nur solchen das thyreotrope Hormon verabfolgt, bei welchen die gewonnenen Stickstoffwerte in mehreren nacheinander

[5] Mansfeld, G.: Klin. Wschr. **14**, 884 (1935); G. Mansfeld u. G. Horváth: Pflügers Arch. **235**, 520 (1935). — [6] Mansfeld, G., u. A. Lánczos: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **183**, 267 (1936). — [7] Literatur bei Loeser, A.: Ebenda **184**, 23 (1937).

folgenden Perioden gut übereinstimmten. War dies der Fall, so spritzten wir den Fröschen nach einer 4—8tägigen Vorperiode thyreotropes Hormon in den Bauchlymphsack ein, und zwar verwendeten wir von August 1936 bis März 1937 das in Lösung befindliche Richtersche Antephysan und von März 1937 bis August 1938 das ebenfalls von Richter in Pulverform hergestellte thyreotrope Hormon „Thyreoantin"*. Von der Lösung gaben wir 0,1 ccm entsprechend 0,1 g frischer Drüse, vom Thyreoantin wurde 0,5—1,0 mg gegeben. 1 mg der verschiedenen Sendungen thyreotropen Hormons entsprach laut Angaben der Fabrik 0,26 g frischer Drüse und enthielt 0,4—0,5 Rowland-Parkes bzw. 4—5 Junkmann-Schoeller-Einheiten.

Das Ergebnis unserer 45 Stoffwechselversuche soll an der Hand der in den Abb. 1—4 angeführten Beispiele geschildert werden. Abb. 1 zeigt, daß im Frühjahr, Sommer und am Anfang des Herbstes die Einspritzung

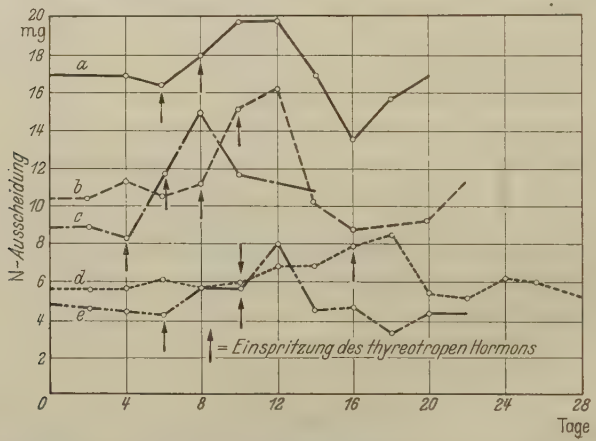


Abb. 1. Wirkung des thyreotropen Hormons im Frühjahr, Sommer und Frühherbst. Ordinate (in sämtlichen Abbildungen) = N-Ausscheidung in mg, Abszisse (in sämtlichen Abbildungen) = Zeit in Tagen. *a* = Versuch von Juni—Juli 1937; *b* = Versuch von Juli—August 1938; *c* = Versuch von Mai 1937; *d* = Versuch von Oktober 1937; *e* = Versuch von Oktober—Anfang November 1937.

von thyreotropem Hormon eine 18—77 %ige Steigerung der N-Ausscheidung bewirkt hat. Diese Steigerung kann, wie die in Abb. 2 wiedergegebenen Temperaturkurven beweisen, nicht auf den Einfluß etwaiger Temperaturveränderungen zurückgeführt werden.

Durch Erhöhung der wirksamen Gaben von thyreotropem Hormon, namentlich durch wiederholte Einspritzung von 2,0 mg, entsprechend etwa 1,0 Rowland-Parkes bzw. 10,0 Junkmann-Schoeller-Einheiten, konnten wir die N-Ausscheidung bei unseren Fröschen nicht nur nicht weiter steigern, sondern wir fanden hier im Gegenteil eine Hemmung der N-Abgabe. Dieser Befund ist mit einer Beobachtung von Rothschild und Staub[8]

* Das thyreotrope Hormon haben uns die Chem. Werke Gedeon Richter, Budapest in liebenswürdiger Weise kostenlos zur Verfügung gestellt, wofür auch an dieser Stelle gedankt werden soll.

[8] Rothschild, F., u. H. Staub: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 189 (1935).

im Einklang, welche Autoren über eine Hemmung der Harnstoffausscheidung bei Kaninchen nach größeren Gaben von thyreotropem Hormon berichten. Ferner hatten wir einzelne negative Ergebnisse auch bei der Verabfolgung von Gaben, welche sonst wirksam waren, und zwar an Fröschen, bei welchen der N-Umsatz an und für sich schon besonders hoch war.

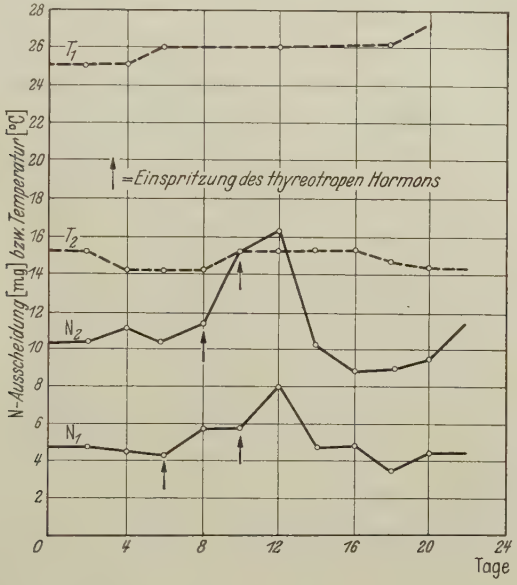


Abb. 2. Temperaturverlauf während zweier Versuche mit thyreotropem Hormon. Ausgezogene Linie = N-Ausscheidung, gestrichelte Linie = Außentemperatur. N_1 = Versuch von Oktober—Anfang November 1937, T_1 = Temperaturverlauf während dieses Versuchs. N_2 = Versuch von Juli—Anfang August 1938, T_2 = Temperaturverlauf während dieses Versuchs.

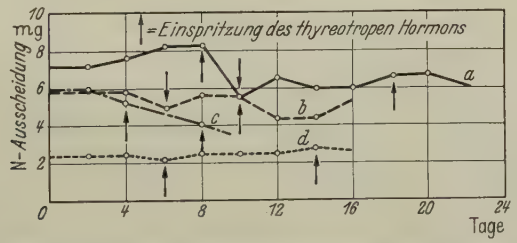


Abb. 3. Wirkung des thyreotropen Hormons im Spätherbst und Winter bei 8—12° C Außentemperatur. *a* = Versuch von November—Dezember 1937; *b* = Versuch von November 1937; *c* = Versuch von Dezember 1936; *d* = Versuch von Dezember 1937.

Während nun im Frühjahr, Sommer und Frühherbst die N-Ausscheidung der Frösche durch thyreotropes Hormon gesteigert werden konnte, blieben die sonst wirksamen Einspritzungen im Spätherbst und Winter ohne Erfolg. Wir fanden also ein ähnliches Verhalten wie bei

unseren früheren Thyroxinversuchen, indem zur selben Jahreszeit das sonst wirksame Thyroxin ebenfalls keine Erhöhung des Eiweißumsatzes bedingt hat. In Abb. 3 sind einige Versuche dieser Art graphisch dargestellt.

Nun haben wir versucht, durch wiederholte Einspritzung der sonst wirksamen Gaben von thyreotropem Hormon auch im Winter eine Stoffwechselwirkung zu erzielen. Dieser Versuch blieb an im Keller bei 8—12° C gehaltenen Fröschen ohne Erfolg.

Wurden aber die Frösche in ein Zimmer von 20° C gebracht, so waren hier zwar die ersten Einspritzungen ebenfalls wirkungslos, nach wiederholter Injektion von thyreotropem Hormon gelang es jedoch unter diesen Umständen, auch im Winter eine Erhöhung der N-Ausscheidung hervorzurufen.

Abb. 4 zeigt den Verlauf eines solchen Versuches.

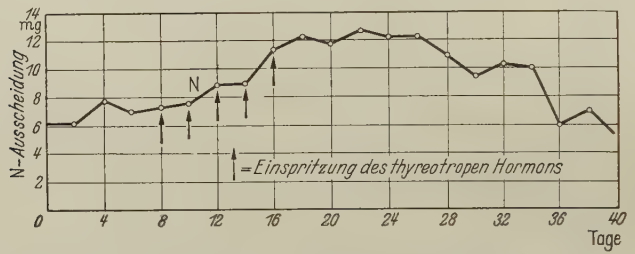


Abb. 4. Wirkung des thyreotropen Hormons im Winter bei wiederholter Zuführung und 20° C Außentemperatur. Versuch von Januar—Anfang Februar 1938.

Besprechung der Ergebnisse.

Wie die im vorigen Abschnitt angeführten Versuche zeigen, fanden wir, daß das thyreotrope Hormon beim Kaltblüter eine Erhöhung des Eiweißumsatzes hervorruft. Da nun, wie eingangs erwähnt wurde, bekannt ist, daß das thyreotrope Hormon seine Stoffwechselwirkungen über die Schilddrüse ausübt, zeigen diese Versuche in Ergänzung unserer früheren Befunde, daß die Schilddrüse auch beim entwickelten Kaltblüter tätig ist und ihr Hormon auch an diesem Tier Stoffwechselwirkungen entfaltet.

Da den Ergebnissen über ein Ausbleiben von Stoffwechselwirkungen der Schilddrüse beim Kaltblüter eine prinzipielle Bedeutung zugesprochen wurde[9], und auch in den neuesten Arbeiten immer wieder hervorgehoben wird, daß sich die Wirkung der Schilddrüse bei diesem Tier nur auf die Metamorphose beschränkt[10], möchten wir an dieser Stelle etwas näher auf die Untersuchungen eingehen, welche über Schilddrüsenwirkungen

[9] Issekutz, B. v., u. B. v. Issekutz, jun.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 442 (1937). — [10] Hausberger, F. X.: Ebenda **186**, 326 (1937).

an niederen Tieren ausgeführt worden sind, und auf einige Literaturangaben hinweisen, welche im Gegensatz zu den eingangs erwähnten Arbeiten über Wirkungen der Schilddrüse bei Poikilothermen auch außerhalb der Metamorphose berichten.

So hat Hiestand[11] auch bei Wirbellosen — Insekten — eine Steigerung des Grundumsatzes durch Thyroxinfütterung hervorrufen können. Wertenberger[12] zeigte, daß fortgesetzte Fütterung mit Schilddrüsenpulver bei Rana catesbiana eine Abnahme des Körpergewichtes und Veränderungen der Magenmotilität verursacht. Giusti[13] fand, daß bei der Schildkröte Clemmys lepro nach Schilddrüsenentfernung das Wachstum zurückbleibt. Herzfeld und Mitarbeiter[14] haben bei Zusatz von Schilddrüsenauszügen zum Wasser, in welchem junge Forellen gehalten wurden, eine Wachstumsbeschleunigung und bei Thyroxinzusatz außerdem krampfartige Erscheinungen an den Tieren beobachtet. Nach Krockert[15] tritt beim Zahnkarpfen Lebistus reticulatus durch Schilddrüsenfütterung vermehrtes Sauerstoffbedürfnis und Steigerung der Atemfrequenz auf. Schließlich konnten Bělehrádek und Huxley[16] bei Axolotln auch nach Beendigung der Metamorphose eine Steigerung der CO_2-Abgabe durch Schilddrüsenfütterung hervorrufen.

Alle diese Beobachtungen sprechen, ebenso wie das eingangs geschilderte histologische Bild, in Übereinstimmung mit unseren Befunden dafür, daß eine Wirkung der Schilddrüse auf den Stoffwechsel beim Kaltblüter keineswegs geleugnet werden darf, wenn sie sich auch anscheinend bei diesem Tier mit seinem trägeren Energieumsatz weniger leicht als beim Warmblüter nachweisen läßt.

In diesem Zusammenhang möchten wir ferner auch jene Arbeiten anführen, welche einen Einfluß des thyreotropen Hormons auf die Schilddrüse und den Stoffwechsel des Kaltblüters zeigen.

Was zunächst die morphologische Wirkung auf die Schilddrüse betrifft, so liegt auf diesem Gebiet eine Beobachtung von Dubowik[17] vor, wonach mechanische oder elektrische Reizung der Hypophyse beim Frosch eine makroskopisch sichtbare starke Vergrößerung der Schilddrüse verursacht. In neuester Zeit berichtet Mason[18] über die Wirkung des thyreotropen Hormons auf die Schilddrüse der Grasschnecke Tropidonotus natrix. An diesem Tier wird durch das thyreotrope Hormon eine Hyperplasie

[11] Hiestand, W. M. A.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **28**, 64 (1930); angef. nach Ber. Phys. **59**, 629 (1931). — [12] Wertenberger, G. E.: Amer. J. Physiol. **104**, 624 (1933); angef. nach Trendelenburg: Die Hormone **2**, 96. Berlin, Jul. Springer, 1934. — [13] Giusti, L.: Rev. vet. **13**, 16 (1931); angef. nach Trendelenburg: S. 92. — [14] Herzfeld, E., P. Mayer-Umhöfer u. Scholz: Klin. Wschr. **10**, 1908 (1931). — [15] Krockert, G.: Z. exper. Med. **98**, 214 (1936). — [16] Bělehrádek, J., u. J. S. Huxley: J. Physiol. (Brit.) **64**, 267 (1927/28). — [17] Dubowik, I. A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **158**, 154 (1930). — [18] Mason, E. M.: Nature London **142**, 480 (1938).

und Kolloidschwund der Schilddrüse hervorgerufen, welche sich mit größerer Regelmäßigkeit und Sicherheit als bei Ratten und Meerschweinchen einstellen, so daß dieses Tier zur Auswertung des Hormons besonders geeignet sein soll.

Diese histologischen Veränderungen wären bei einer Inaktivität der Schilddrüse unverständlich und sprechen schon an und für sich dafür, daß dieselbe auch beim Kaltblüter durch thyreotropes Hormon auslösbare Stoffwechselwirkungen ausübt. Solche Stoffwechselwirkungen wurden aber auch direkt nachgewiesen.

So haben Schwartzbach und Uhlenhuth[19] an Axolotln durch Injektion von Hypophysenvorderlappensubstanz eine Steigerung des Sauerstoffverbrauchs um 30—114% hervorrufen können. Bei Fehlen der tiereigenen Schilddrüse war die Vorderlappensubstanz unwirksam. Winton und Hogben[20] fanden, daß beim Frosch die Entfernung der Hypophyse zu einer Herabsetzung des Grundumsatzes führt. Schließlich ist in Zusammenhang mit unserer Feststellung über Steigerung der N-Ausscheidung durch thyreotropes Hormon eine Mitteilung von Braier[21] von besonderem Interesse. Dieser Autor fand nämlich bei Kröten nach Hypophysenentfernung eine etwa 30%ige Abnahme der N-Ausscheidung im Harn. Durch Einpflanzung vom Vorderlappen konnte die normale Höhe der N-Ausscheidung wieder hergestellt werden.

Was nun unsere an Winterfröschen erhobenen Feststellungen betrifft, so dürfte der Befund, wonach das sonst stoffwechselwirksame thyreotrope Hormon ähnlich wie das Thyroxin im Winter bei niedriger Temperatur keine Erhöhung des Eiweißstoffwechsels hervorruft, in Zusammenhang mit der Frage des Winterschlafes von Interesse sein. Bekanntlich wurde der Schilddrüse und der Hypophyse eine Rolle beim Zustandekommen des Winterschlafes zugesprochen[22]. In ähnlicher Weise scheinen, wie bereits die histologischen Untersuchungen von Sklower u. a.[4] vermuten ließen und wie unsere Ergebnisse zeigen, diese Drüsen für die winterliche Einschränkung des Stoffwechsels beim Kaltblüter mit verantwortlich zu sein. So wie nun beim winterschlafenden heterothermen Säugetier das Hypophysensekret als Weckreiz dienen kann, so scheint es auch beim Kaltblüter die winterliche Stoffwechsellage, namentlich das refraktäre Verhalten gegen sonst stoffwechselwirksame Reize umstimmen zu können.

Zusammenfassung.

1. Nachdem in einer früheren Mitteilung gezeigt wurde, daß von außen zugeführtes Thyroxin die N-Ausscheidung beim Frosch steigert, wurde

[19] Schwartzbach, S. S., u. E. Uhlenhuth: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **26**, 389 (1929); angef. nach Ber. Phys. **51**, 107 (1929). — [20] Winton, Frank R., u. Lancelot T. Hogben: Quart. J. exper. Physiol. **13**, 309 (1923); angef. nach Ber. Physiol. **24**, 248 (1924). — [21] Braier, B.: Rev. Soc. argent. Biol. **9**, 72 (1933); angef. nach Ber. Physiol. **76**, 118 (1934). — [22] Vgl. z. B. Schenk, P.: Pflügers Arch. **197**, 66 (1922).

nun die Wirkung des thyreotropen Hormons auf den Eiweißumsatz geprüft. Es wurde festgestellt, daß am Frosch durch das thyreotrope Hormon eine ähnliche Steigerung der N-Ausscheidung wie durch das Thyroxin selbst hervorgerufen werden kann. Da nun das thyreotrope Hormon bekanntlich seine Wirkung auf dem Wege über die Schilddrüse entfaltet, zeigen diese Versuche, daß die Schilddrüse auch beim voll entwickelten Kaltblüter tätig ist und ihr Sekret auch bei diesem Tier eine Stoffwechselwirkung entfaltet.

2. Im Spätherbst und Winter waren die im Frühjahr, Sommer und Frühherbst wirksamen Gaben von thyreotropem Hormon unwirksam. Um zu dieser Jahreszeit eine Wirkung zu erzielen, mußten die Gaben wiederholt zugeführt und die Tiere bei einer erhöhten Außentemperatur (20° C) gehalten werden.

Aus der II. Medizinischen Universitätsklinik der Charité Berlin.
(Direktor: Prof. Dr. G. v. Bergmann.)

Die Wirkung von Coffein auf den Milchsäurestoffwechsel von Herz und Lunge*.

Von

A. Rühl und **S. Thaddea.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 31. Oktober 1938.)

Durch eine Reihe von Untersuchungen (McGinty[1], Rühl und Rolshoven[2], Rühl und Thaddea[3], Evans[4]) steht die Tatsache eines Milchsäureverbrauchs des Herzens, sowohl im isolierten H. L. P. wie auch am ganzen Tier fest. Die Milchsäuremenge, die das arbeitende Herz dem Coronarblut entnimmt, ist sogar größer als der Verbrauch an Zucker (Evans[4]), wodurch die entscheidende Bedeutung der Milchsäure im gesamten KH-Stoffwechsel des Herzens unterstrichen wird. Es ist auch bisher nur unter Grenzbedingungen extremer Anoxie (Cyanidvergiftung[5, 6]) möglich gewesen, im Experiment das Herz zu einer Milchsäureabgabe zu bringen, während unter allen möglichen sonstigen Giftwirkungen (Histamin, Barbitursäuren[3], Monojodessigsäure[7]), die das Herz sicher schwer schädigen, der Milchsäureverbrauch bestehen blieb.

Diesen Ergebnissen gegenüber nehmen unsere Befunde über die Coffeinwirkung, die wir jetzt untersucht haben, eine ausgesprochene Sonderstellung ein; über sie soll im folgenden berichtet werden.

Methodik.

Herz-Lungen-Präparat (H.L.P.) am Hund entsprechend der Methodik früherer Mitteilungen[8], ebenso auch Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs und der Milchsäurewerte[3]; für letztere ist zu bemerken, daß die kolorimetrische Bestimmung streng genommen nur Aldehydreaktion gebende Substanzen erfaßt. Glykogenanalyse nach Pflüger. Narkose: meist Morphin-Evipan, vereinzelt auch Morphin-Chloralose, Narkose des Blutspendehundes meist Äther. Gesamtblutmenge im H.L.P. etwa 1,5 Liter. Über Zusätze von Insulin und Dextrose zu Versuchsbeginn siehe die spätere Tabelle 1. Coffeinum purum wurde 1 : 100 in physiologischer

* Ein Teil der Ergebnisse wurde auf dem Kongreß der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft 1938 mitgeteilt.

[1] Mc Ginty: Amer. J. of Physiol. **98**, 244 (1931). — [2] Rühl u. Rolshoven: Klin. Wschr. **12**, 776 (1933). — [3] Rühl u. Thaddea: Ebenda **13**, 1529 (1934). — [4] Evans u. a.: J. of Physiol. **80**, 21 (1933); Quarterly J. of exper. Physiol. **24**, 347 (1935). — [5] Rolshoven: Z. f. d. ges. exper. Med. **90**, 225 (1933). — [6] Rühl: Verh. d. Dtsch. Pharm. Ges. **1938**. — [7] Rühl u. Thaddea: Z. f. d. ges. exper. Med. **100**, 306 (1937). — [8] Rühl: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**, 568 (1933); **187**, 22 (1937).

Kochsalzlösung gelöst und langsam in das Venenblutreservoir des H.L.P. injiziert. Die Versuche wurden so angelegt, daß steigende Dosen (siehe Tabelle 1) bis zum Eintreten hämodynamischer Insuffizienzerscheinungen verabfolgt und eventuell auch dann noch wiederholt wurden. — Die Ekg.-Schreibung in einigen wenigen Versuchen erfolgte in Ableitung Anus-Oesophagus mit einem Siemens-Verstärker-Ekg.

Ergebnisse.

1. Hämodynamik.

Nach den vorliegenden Literaturangaben, die wir selbst nach diesen und anderen Versuchen bestätigen können, hat das Coffein eine fördernde

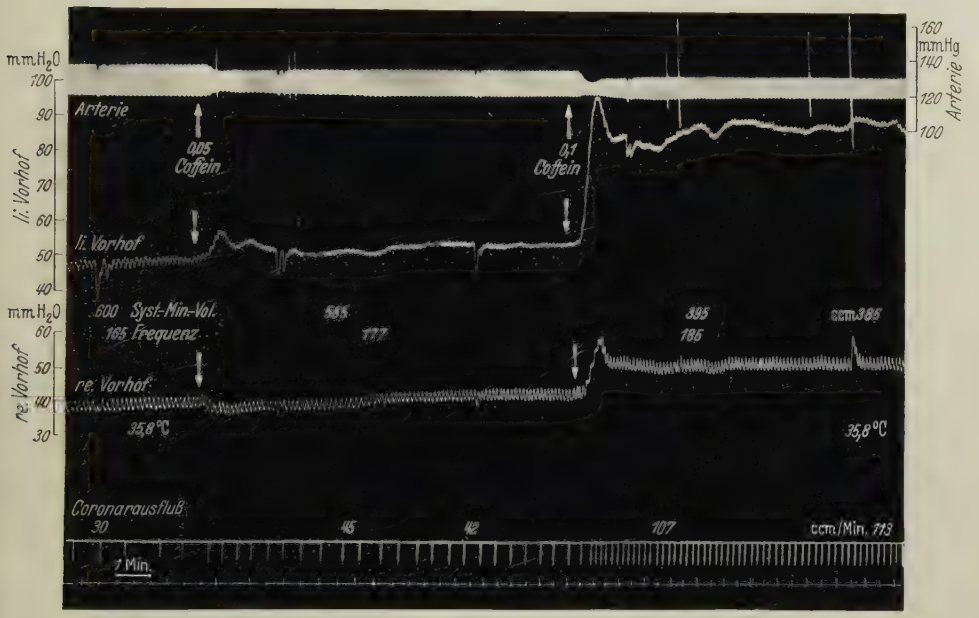


Abb. 1. Verhalten von Arteriendruck, Vorhofdrucken. Minutenvolumen, Coronarausfluß und Frequenz unter steigenden Coffeindosen am H. L. P. Versuch Nr. 4.

Wirkung an solchen Herzen, deren Leistung durch irgendeine Schädigung herabgesetzt ist. Hier wird vor allem das Minutenvolumen gesteigert, das Herz kontrahiert sich besser und dementsprechend sinken die Vorhofdrucke. Die Coronardurchblutung wird größer (Bodo[9], Anrep und Stacey[10] u. a.), die Frequenz nimmt zu. Rössler[11] beschreibt solche günstigen Wirkungen bei 200 mg Coffein, Kiese[12] bei 115—175 mg; nach unseren eigenen Befunden sowie nach denen von Bodo[9] sind flüchtige günstige Wirkungen schon mit 50—100 mg zu erhalten.

[9] Bodo: J. of Physiol. **64**, 365 (1927). — [10] Anrep u. Stacey: Ebenda **64**, 187 (1927). — [11] Flaum u. Rössler: Klin. Wschr. **12**, 1489 (1933). — [12] Kiese u. Gummel: Ebenda **17**, 927 (1938).

Am intakten Herzen bleibt nach unseren Ergebnissen mit Dosen von 25—150 mg die Herzleistung unbeeinflußt, es steigt hier nur Frequenz- und Coronardurchblutung (vgl. auch Kiese[12]). Erhöht man nun die Dosis weiter, so kommt es als Ausdruck einer toxischen Coffeinwirkung auf das Herz zur Abnahme der Herzleistung bei ansteigenden Vorhofdrucken, also zu dem typischen Bild der hämodynamischen Herzinsuffizienz. Die hierfür nötige Dosis (150—400 mg) ist von Versuch zu Versuch, wie sich aus der späteren Tabelle 1 ergibt, stark schwankend. Die Abb. 1, entsprechend dem späteren Versuch Nr. 4, gibt ein typisches Beispiel der Coffeinwirkung in toxischen Dosen am H.L.P.

2. Wirkung des Coffeins auf den Milchsäurestoffwechsel des Herzens.

Die erhaltenen Ergebnisse können am besten an Hand der beifolgenden Abb. 2 besprochen werden, der ein charakteristischer Versuch zugrunde

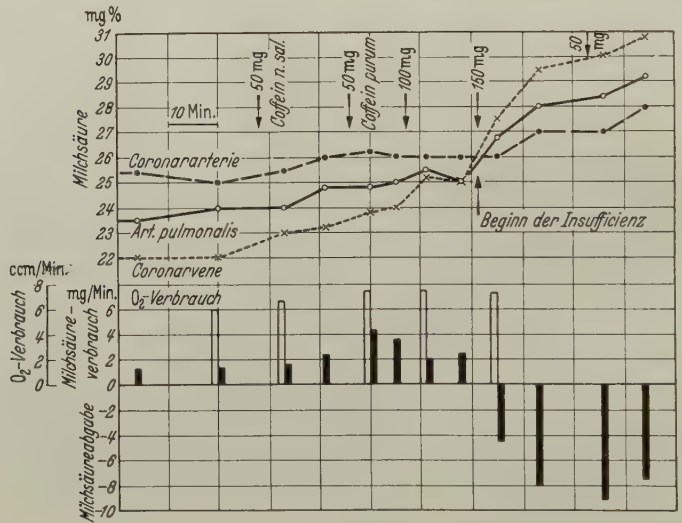


Abb. 2 (Versuch Nr. 6). Weiße Stäbe: O_2-Verbrauch; schwarze Stäbe: Milchsäure-Verbrauch (-Abgabe).

liegt. Zunächst wollen wir hier nur die Milchsäurewerte im arteriellen und im Coronarvenenblut berücksichtigen. Die ersten kleinen Coffeingaben lassen die Milchsäureaufnahme des Herzens, d. h. den Milchsäureverbrauch unverändert; die Coronarvenenwerte liegen tiefer als die arteriellen (in Stab 4 der Tabelle 1 Differenzwerte mit Minusvorzeichen). Da die Größe dieser Differenz zunächst nicht beeinflußt wird, die Coronardurchblutung aber zunimmt, ergibt sich ein im ganzen größerer Milchsäureverbrauch. Das entspricht den Befunden am pharmakologisch unbeeinflußten Herzen, wo ebenfalls mit steigender Coronardurchblutung der Milchsäureverbrauch meist zunimmt[3]. Bei weiterer Injektion von 100 mg Coffein ändert sich

das Bild insofern etwas, als die Differenz Arterie—Vene bereits deutlich kleiner wird. Die zusätzliche Injektion von 150 mg Coffein führt dann zur hämodynamischen Insuffizienz und jetzt kommt es zur Milchsäureabgabe des Herzens, die weiterhin bestehen bleibt (Differenzwerte mit Plusvorzeichen in Tabelle 1, Stab 4). Dieser Befund einer Milchsäureabgabe des Herzens, der nach allen eingangs mitgeteilten Erfahrungen als ungewöhnlich bezeichnet werden muß, wurde in insgesamt 7 Versuchen (vgl. Tabelle 1) bestätigt.

Eine Milchsäureabgabe nach kleinen Dosen bei fehlenden hämodynamischen Zeichen einer toxischen Coffeinwirkung haben wir nur als Ausnahme bei Verwendung von Coffeinum natriosalicylicum (Coff. n. s.) und Coffeinum natriobenzoicum (Coff. n. b.) in Versuch Nr. 1 und 2 gesehen, ohne daß es möglich war, dieses Ergebnis später zu reproduzieren (siehe Versuch Nr. 6); wir haben dann im allgemeinen auch nur noch Coffeinum purum verwendet, um den Einwand spezifischer Wirkungen von Benzoesäure oder Salicylsäure zu vermeiden. Für die abweichenden Ergebnisse muß wohl eine besondere Empfindlichkeit der Herzen in diesen Versuchen angenommen werden. In den übrigen Versuchen setzt die Milchsäureabgabe erst zusammen mit der Schädigung des Herzens ein, die in Tabelle 1 jeweils aus dem Ansteigen der mittleren Vorhofdrucke $\left(\frac{re+li}{2}\right)$ in Stab 2 zu entnehmen ist.

Es ist also als Ergebnis festzustellen, daß es im allgemeinen dann zu einer Milchsäureabgabe des Herzens unter Coffein kommt, wenn toxische Dosen, die am Einsetzen einer hämodynamischen Insuffizienz erkennbar sind, gegeben werden.

Dabei bleibt die Milchsäureabgabe jedoch keineswegs immer bestehen. So zeigt beispielsweise Versuch Nr. 3 nur eine vorübergehende Abgabe bei allerdings auch nur flüchtiger und geringer Coffeinschädigung. Auch in Versuch Nr. 1 führen nur die ersten Injektionen zu einem Ansteigen der Milchsäurewerte in der Coronarvene über die in der Arterie. Besonders eindrucksvoll ist aber hier Versuch Nr. 4, in dem zunächst — bei bestehenbleibender hämodynamischer Insuffizienz — eine Erholung, d. h. wieder Milchsäureaufnahme des Herzens eintritt, der dann erst bei weiterer Zufuhr von Coffein doch erneut eine Milchsäureabgabe folgt.

Diese Befunde weisen darauf hin, daß die Milchsäuremenge, die unter Coffeinwirkung abgegeben werden kann, offenbar relativ leicht erschöpflich ist. Besonders bemerkenswert ist hier, daß nach den in unmittelbarem Anschluß an den letzten Milchsäurewert entnommenen Glykogenwerten der Tabelle 1 der Glykogenbestand des Herzens unbeeinflußt bleibt, eine Glykogenolyse also nicht die Ursache für die Milchsäureabgabe sein kann; die Glykogenzahlen unserer Versuche müssen nach zahlreichen Vergleichsuntersuchungen als völlig normal bezeichnet werden. Es verhält sich der Herzmuskel also anders als der Skeletmuskel am ganzen Tier;

Tabelle

Hund, Gewicht, Narkose	1 Zeit nach Versuchsbeginn	2 Vorhofdruck $\left(\frac{re + li}{2}\right)$ mm H_2	3 Coronarausfluß ccm/Min.	4 Milchsäure-differenz Arterie—Coronarvene mg%
1.	0h 22′	54	65	— 2,6
12 kg	36	59	50	— 2,6
0,02 Mo.	40			
0,4 Evipan	43	55	59	+ 5,0
Kein Insulin	48	57	57	+ 3,5
Keine Dextrose	49			
	54	54	80	+ 2,4
	59	54	83	— 1,0
	1h 00′			
	09	48	130	— 1,6
	19	48	139	— 2,4
2.	0h 40′	46	36	— 2,8
18,5 kg	45	46	36	— 2,6
0,04 Mo.	1h 44′	44	170	— 1,6
0,6 Evipan	47			
5 E. Insulin	51	44	182	— 6,0
0,8 g Dextrose	2h 03′			
	09	47	191	— 2,2
	11			
	15	48	206	+ 2,2
	20			
	22	93	180	+ 1,0
	26	95	180	+ 5,0
	28			
3.	1h 51′	85	99	— 2,0
9,5 kg	55			
0,04 Mo.	58	86	112	— 1,0
0,3 Evipan	2h 01′			
6 E. Insulin	04	93	125	+ 1,4
0,4 g Dextrose	17	85	121	— 1,5
	25			
	28	94	124	— 0,4
	35	88	126	— 1,8
	45	88	117	— 2,0
4.	0h 46′	40	29	— 3,5
7,8 kg	55	45	30	— 2,8
0,04 Mo.	56			
0,18 Evipan	1h 01′	46	45	— 1,6
Kein Insulin	06	49	42	— 2,6
Keine Dextrose	09			
	12	67	107	+ 4,2
	22	71	113	+ 0,4
	33	68	108	± 0
	38			
	43	80	143	— 0,8
	46			
	50	105	175	+ 7,5
	2h 02′	104	160	+ 4,2
	07	105	166	+ 1,4
	09			

1.

5	6	7	8	
Milchsäure-verbrauch	Milchsäure-differenz A. Pulmonalis —Arterie	O_2-Verbrauch	RQ.	
mg/Min.	mg%	ccm/Min.		
2,8				
2,2		8,2	1,10	
				0,05 Coffein n. s.
(— 4,9)				
(— 3,3)		8,3	1,10	
				0,1 „
(— 3,2)				
1,4		8,5	1,08	
				0,2 „
3,5				
5,6		8,1	1,05	
1,7				
1,6				
4,5				
18,2				0,025 Coffein n. b.
7,0				0,05 „
(— 7,6)				0,1 „
(— 3,0)				0,2 „
(— 8,3)				
				Glykogen 534 mg%
3,3	+ 0,2	8,3	0,74	
				0,05 Coffein
1,9	+ 1,0			
				0,1 „
(— 2,9)	— 1,0	7,7	1,22	
3,0	+ 0,9	7,3	1,0	
				0,1 Coffein n. s.
0,8	— 0,4			
3,8	+ 0,8	8,5	0,91	
3,9	+ 1,0			
1,7	+ 1,9			
1,4	+ 1,4	6,2	0,86	
1,2	+ 0,8	6,3	0,79	0.05 Coffein
1,8	+ 1,2			
(— 7,5)	— 1,4	6,3	1,11	0,1 „
(— 0,8)	— 0,4	6,8	0,83	
	— 0,4			
1,9	+ 0,8			0,1 „
(— 21,8)	— 1,9	7,3	0,85	0,2 „
(— 11,2)	— 2,4			
(— 3,9)	— 0,4			
				Glykogen 500 mg%

Tabelle 1

Hund, Gewicht, Narkose	1 Zeit nach Versuchsbeginn	2 Vorhofdruck $\left(\frac{re + li}{2}\right)$ mm H_2O	3 Coronarausfluß ccm/Min.	4 Milchsäuredifferenz Arterie Coronarvene mg%
5.	0h 48′	60	51	− 3,1
11 kg	1h 56′	66	124	− 2,4
0,04 Mo.	2h 03′	83	108	− 1,8
0,3 Evipan	05			
Kein Insulin	10	74	147	− 2,0
Keine Dextrose	11			
	15	74	196	− 2,4
	19			
	22	etwa 290	156	+ 0,8
	27	„ 290	156	+ 2,4
	29			
6.	0h 39′	59	24	− 3,4
9,8 kg	55	63	28	− 3,0
0,04 Mo.	1h 03′			
0,8 Chloralose	08	66	44	− 2,5
Kein Insulin	16	64	52	− 2,8
Keine Dextrose	21			
	25	69	108	− 2,4
	30	69	107	− 2,0
	32			
	36	67	151	− 0,8
	43	67	146	− 1,0
	45			
	50	87	181	+ 1,5
	58	90	192	+ 2,5
	2h 08′			
	11	88	182	+ 3,0
	19	110	160	+ 2,8
7.	0h 54′	92	83	− 4,4
12 kg	1h 06′	76	100	− 3,5
0,04 Mo.	09			
0,96 Chloralose	13	81	113	− 3,3
5 E. Insulin	19	81	114	− 3,0
0,8 g Dextrose	24			
	27	93	163	− 2,3
	31			
	33	138	182	− 0,8
	37	143	181	+ 2,2
	42	138	192	+ 3,5
	44			

Brentano[13] hat hier am Kaninchen mit 150—200 mg Coffein/kg schwere Schädigungen erzielen können, die sich in einem Glykogenzerfall im Muskel zusammen mit Kreatinurie äußerten. Für das Herz möchten wir nach unseren Untersuchungen annehmen, daß die an das Coronarblut abgegebene Milchsäure nicht aus dem Glykogen, sondern aus irgendwelchen

[13] Brentano: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **163**, 156 (1931).

(Fortsetzung).

5 Milchsäure-verbrauch mg/Min.	6 Milchsäure-differenz A. Pulmonalis —Arterie mg%	7 O_2-Verbrauch ccm/Min.	8 RQ.	
2,6	+ 1,5			
4,9	+ 1,0			
3,5	+ 1,2			
				0,05 Coffein
4,9	+ 0,8	9,2	0,84	
				0,1 „
7,8	+ 1,4			
				0,1 „
(— 2,1)	± 0	11,4	1,05	
(— 6,2)	— 0,9	10,9	1,06	
				Glykogen 523 mg%
1,3	+ 1,9			
1,4	+ 1,0	5,9	0,96	
				0,05 Coffein n. s.
1,8	+ 1,5	6,6	0,95	
2,4	+ 1,2			
				0,05 Coffein
4,3	+ 1,4	7,4	1,03	
3,6	+ 1,0			
				0,1 „
2,1	+ 0,5	7,5	0,95	
2,4	+ 1,0			
				0,15 „
(— 4,5)	— 0,8	7,3	1,04	
(— 8,0)	— 1,0			
				0,05 „
(— 9,1)	— 1,4			
(— 7,5)	— 1,2			
6,1	+ 1,9			
5,8	+ 1,8			
				0,05 Coffein
6,2	+ 1,8			
5,7	+ 1,8			
				0,1 „
6,3	+ 1,3			
				0,1 „
2,4	+ 1,0			
(— 6,6)	— 0,7			
(— 11,2)	— 2,2			
				Glykogen 552 mg%

Abbau- bzw. Zwischenstufen der Tätigkeitssubstanzen des Muskels stammt. Rein theoretisch könnte auch an Permeabilitätsänderungen gedacht werden, die eine Milchsäurediffusion aus dem Herzmuskel ins Blut möglich machen.

In einem Teil der Versuche wurde weder Insulin noch Dextrose zugegeben; ein Einfluß auf das Verhalten des Milchsäurestoffwechsels unter Coffein kann nach den Befunden der Tabelle 1 jedoch nicht angenommen werden. Zum Verständnis

dieser Beobachtung ist zu erwähnen, daß der Blutzuckerspiegel im H.L.P. an sich infolge der Narkose der Tiere hoch ist und in unseren Versuchszeiten den Wert von 100 mg% nicht unterschreitet. Zuckerzufuhr bedeutet also am H.L.P. Hyperglykämie. Auch bei Wegfall jeder Insulinwirkung wird der Zucker- und Milchsäurestoffwechsel des Herzens in den langfristigen Versuchen von Evans[14] relativ wenig geändert.

Für die Bewertung dieser besonderen Wirkung des Coffeins auf den Milchsäurestoffwechsel des Herzens erscheint uns weiterhin von besonderer Bedeutung, daß die Milchsäureabgabe unter aeroben Bedingungen erfolgt; es besteht hier keine Beziehung zu den Versuchen von Weese[15], der am Gehirnschnitt eine Steigerung der anaeroben Glykolyse unter Coffein beobachtet hat. In dieser Beziehung sind die Coffeinversuche auch nicht mit unseren Versuchen mit Cyanidzusatz und Erstickung des H.L.P. durch Stickstoffatmung vergleichbar, den einzigen Schädigungen, bei denen eine Milchsäureabgabe gegenüber dem sonst üblichen Milchsäureverbrauch des Herzens nachzuweisen war. Der Sauerstoffverbrauch des isolierten Herzens (vgl. Tabelle 1, Stab 7) nahm in den Versuchen Nr. 4, 5 und 6 unter Coffein sogar zu, womit wir die Beobachtungen von Gummel und Kiese[12] bestätigen können; in Versuch Nr. 1 blieb der O_2-Verbrauch praktisch unverändert, in Versuch Nr. 3 kam es zu einer geringen vorübergehenden Abnahme. Zusammenhänge zwischen Milchsäureabgabe und Verhalten des Sauerstoffverbrauchs bestehen nach unseren Befunden nicht. Hier wäre auch kurz zu erwähnen, daß wir in zwei Versuchen Elektrokardiogramme aufgenommen haben, die jedoch bei Einsetzen der Milchsäureabgabe des Herzens eine Änderung, insbesondere der Nachschwankung, nicht erkennen ließen.

Auffallend ist, daß die Werte der respiratorischen Quotienten (Stab 8 der Tabelle 1) nur in einem Teil der Bestimmungen zusammen mit der Milchsäureabgabe des Herzens ansteigen. Eine nähere Analyse dieses Verhaltens ist bei der Vielheit der chemischen Umsetzungen im arbeitenden Muskel außerordentlich schwierig; denkbar wäre eine Beeinflussung durch Reaktionsänderungen im Muskel selbst (auch p_H im arbeitenden Skeletmuskel steigt zunächst an), vielleicht auch durch eine toxische NH_3-Bildung.

3. Vergleichsuntersuchungen mit Euphyllin.

Daß wir von den verschiedenen therapeutisch angewendeten Purinkörperderivaten neben dem Coffein gerade das Euphyllin (Theophyllin-Äthylendiamin) untersuchten, hat seinen Grund darin, daß Gottdenker und Rothberger[16] am H.L.P. unter Euphyllin in Dosen von 75—100 mg entweder eine Abnahme des absoluten Milchsäureverbrauchs oder eine Milchsäureabgabe beschrieben haben.

---

[14] Evans: Quarterly J. of exper. Physiol. **24**, 365 (1935). — [15] Weese: Medizin u. Chemie (I. G.) II (1934). — [16] Gottdenker u. Rothberger: Arch. Physiol. **237**, 59 (1936).

Auch Euphyllin führt am H.L.P. zu Frequenzsteigerungen und lang anhaltender Zunahme der Coronardurchblutung. Dagegen wurde in unseren Versuchen schon mit Dosen von 75 und 100 mg die Herzleistung ungünstig beeinflußt, wie sich aus Abb. 3 ergibt, die eine deutliche Schädigung, besonders des linken Herzens (Anstieg des Druckes im linken Vorhof!) erkennen läßt.

Im Gegensatz zum Coffein fehlt jedoch beim Euphyllin trotz gleichartiger hämodynamischer Schädigung bei allerdings kleineren Dosen eine Wirkung auf den Milchsäurestoffwechsel (vgl. Tabelle 2), so daß wohl

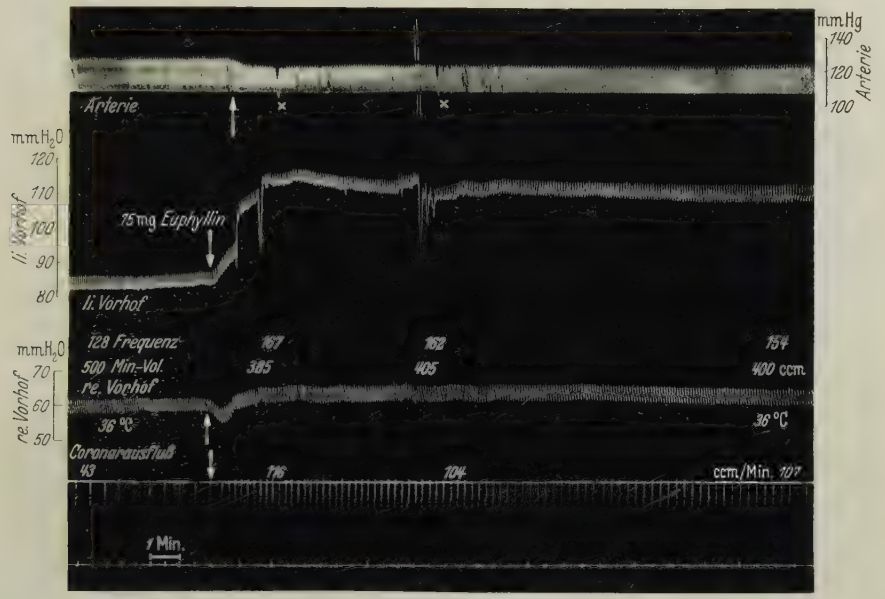


Abb. 3. Wirkung von 0,075 Euphyllin am H. L. P. (Versuch Nr. 3). Die Kurvenzacken bei × sind durch Blutentnahmen bedingt.

dem Coffein eine gewisse Sonderstellung als Herzgift eingeräumt werden muß. Die Angaben von Gottdenker und Rothberger[16] finden durch unsere Befunde keine Stütze.

4. Beeinflussung des Milchsäurestoffwechsels in der Lunge durch Coffein.

Bei der genaueren Analyse von Einzelversuchen waren wir auf einen Befund gestoßen, für den wir zunächst keine Erklärung fanden; es zeigte sich nämlich, daß die Milchsäureabgabe des Herzens nicht annähernd zu dem rechnerisch zu erwartenden Anstieg des Milchsäurespiegels im Blute des H.L.P. führte (vgl. hierzu auch die arteriellen Milchsäurewerte der Abb. 1). In einigen Versuchen blieb der Milchsäurespiegel sogar gleich oder nahm etwas ab. Nun ist aber bekannt (vgl. Evans[17]), daß im H.L.P.

[17] Evans, Hsu u. Kosaka: J. of Physiol. **82**, 41 (1934).

Tabelle 2.

Hund, Gewicht, Narkose	1 Zeit nach Versuchsbeginn	2 Vorhofdruck $\left(\frac{re+li}{2}\right)$ mm H_2O	3 Coronarausfluß ccm/Min.	4 Milchsäuredifferenz Arterie—Coronarvene mg%	5 Milchsäureverbrauch mg/Min.	6 Milchsäuredifferenz A. Pulmonalis—Arterie mg%	
1.	0h 32′	57 *	46	— 1,4	1,0		
10,5 kg	40	53 *	50	— 2,8	2,3		
0,02 Mo.	44						0.05 Euphyllin
0,3 Evipan	45	57 *	101	— 2,0	3,4		
Kein Insulin	51	52 *	102	— 2,2	3,7		
0,8 g Dextrose	59	53 *	102	— 2,2	3,7		
2.	0h 26′	83	20	— 2,5	0,8		
7,5 kg	31	80	19	— 2,8	0,9		
0,02 Mo.	33						0,1 Euphyllin
0,2 Evipan	36	84	33	— 2,1	1,2		
Kein Insulin	42	92	27	— 1,8	0,8		
Keine Dextrose	51	82	25	— 2,0	0,8		
3.	0h 47′	72	41	— 2,0	1,4	+ 0,8	
9,5 kg **	1h 02′	72	43	— 3,0	2,1	+ 1,8	
0,04 Mo.	08						0,075 Euphyllin
0,3 Evipan	10	98	116	— 1,2	2,3	+ 0,4	
6 E. Insulin	16	90	104	— 2,0	3,5	+ 0,8	
0,4 g Dextrose	30	89	107	— 2,2	3,9	+ 1,0	

* Nur rechter Vorhofdruck. — ** Vgl. Versuch Nr. 3, Tabelle 1.

dauernd glykolytisch Milchsäure teilweise im Blute selbst, teils in der Lunge gebildet wird, wodurch es zu einem Ausgleich des Milchsäureverbrauchs des Herzens kommt. Hiernach wäre unter Coffein bei Wegfall des Milchsäureverbrauchs des Herzens eine der Glykolyse entsprechende Zunahme des Milchsäurespiegels, vermehrt durch die vom Herzen abgegebene Milchsäure, zu erwarten gewesen.

Die Frage nach dem Verbleib dieser Milchsäure gab Veranlassung, auch den Milchsäurestoffwechsel in der Lunge zu untersuchen. Dabei wurde so vorgegangen, daß zusammen mit der Entnahme des arteriellen und venösen Blutes auch aus einem Ast der Arteria pulmonalis Blut zur Milchsäurebestimmung abgenommen wurde. Damit konnte im Pulmonalarterienblut der Milchsäuregehalt vor und im Arterienblut nach Lungenpassage erfaßt werden. Aus Stab 6 in Tabelle 1 und 2 ist zunächst ersichtlich, daß grundsätzlich im Blute nach Lungenpassage mehr Milchsäure enthalten ist als im Pulmonalarterienblut, d. h. es wird in der Lunge Milchsäure gebildet (Werte mit Plusvorzeichen Stab 6, Tabelle 1 und 2). Durch diese und eine größere Reihe anderer Versuche, über die noch gesondert berichtet wird, werden die Befunde von Evans mit anderer Versuchsanordnung völlig bestätigt. Wir müssen dabei betonen, daß es sich um völlig konstante Ergebnisse handelt. Die einzige Ausnahme in bisher

allen Versuchen bildet der 2 Uhr 28 Minuten-Wert in Versuch Nr. 3 und auch dieser liegt im Rahmen unserer Fehlerstreuung von $\pm$ 0,5 mg% Milchsäure. Das Ausmaß der Milchsäuredifferenzen im Blute vor und nach Lungenpassage ist allerdings so klein, daß eine quantitative Berechnung nicht möglich ist, da sich die Streuungen der Bestimmung bei Multiplikation mit den Minutenvolumina zwangsläufig außerordentlich vergrößern.

Es zeigt sich nun weiterhin, daß in demselben Zeitpunkt, in dem im Herzen der Milchsäurestoffwechsel durch Coffein so schwer geschädigt wird, es zur Milchsäureabgabe kommt, derselbe auch in der Lunge völlig umgekehrt wird: die Milchsäurebildung macht einer Milchsäureaufnahme Platz, den Plusvorzeichen in Stab 4 entsprechen korrespondierend die Minusvorzeichen in Stab 6 (Tabelle 1). Auch hier handelt es sich um regelmäßig erhobene Befunde.

Was mit der Milchsäure geschieht, die bei der Coffeinschädigung aus dem Blute in die Lunge eintritt, ob es sich um einen Stoffwechselvorgang oder eine einfache Diffusion handelt, vermögen wir bis jetzt mit Sicherheit nicht zu sagen. Versuche mit Stickstoffatmung, über die noch berichtet wird und die zu ähnlichen Ergebnissen führten, sprechen mehr für eine Diffusion. Wir denken hier an eine Störung der biologischen, d. h. gerichteten Kapillarpermeabilität im Sinne von Eppinger[18]. Dabei ist auch an ältere Versuche von Fröhlich und Zak[19] zu erinnern, die nach Theophyllin eine Steigerung der Kapillarpermeabilität außer für sonst inpermeable Stoffe und Gifte auch für Glucose gesehen haben. Wenn diese Versuche auch nicht ohne weiteres auf unsere Bedingungen übertragen werden können, sind sie doch als möglicher Erklärungshinweis bemerkenswert. Andererseits ist durch die Untersuchungen von E. Bock[20] bekannt, daß Lungenödem, also Flüssigkeitsaustritt, durch prophylaktische Coffeingabe hintangehalten werden kann.

Durch unseren Befund einer Milchsäureaufnahme in der Lunge ist zunächst das Fehlen eines stärkeren Anstiegs des Milchsäurespiegels im Blute des H.L.P. unter den Bedingungen der Coffeinschädigung geklärt. Es fällt nicht nur die bisherige Milchsäureabgabe in der Lunge weg, sondern darüber hinaus gehen noch größere Milchsäuremengen in die Lunge hinein. Diese Milchsäure auch chemisch zu erfassen bzw. ihren Weg chemisch zu verfolgen, ist unter den Bedingungen des H.L.P. nicht möglich; hierüber sind noch weitere Versuche notwendig.

Über die spezielle Fragestellung hinaus, unter der wir an die Untersuchung des Milchsäurestoffwechsels in der Lunge herangegangen sind, müssen wir eine wesentliche Bedeutung unserer Versuche dahin sehen, daß die Annahme einer Konstanz des Lungenstoffwechsels zunächst einmal für eine bestimmte Schädigung nicht mehr zu Recht

[18] Eppinger: Verh. d. Dtsch. Ges. f. Kreislaufforsch. Nauheim **1938**. — [19] Fröhlich u. Zak: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **121**, 108 (1927); **141**, 351 (1929). — [20] Bock, E.: Ebenda **166**, 634 (1932).

besteht. Da der Lungenstoffwechsel sogar fundamental umgestoßen werden kann, können unsere Beobachtungen vielleicht auch zur Erklärung der Differenzen zwischen den Befunden von Evans und Mitarbeitern[17], die in der Lunge eine Milchsäurebildung, und von Eppinger und Wagner[21], die unter sicher weniger physiologischen Bedingungen eine Milchsäureaufnahme gesehen haben, beitragen.

Das gegensätzliche Ergebnis der Coffeinschädigung an Herz und Lunge — einmal Milchsäureaufnahme, das andere Mal Milchsäureabgabe — scheint uns insofern weniger auffallend, als es sich in beiden Fällen um eine Umkehr des physiologischen Stoffwechsels handelt. Auch in der Literatur finden sich Angaben, nach denen der Charakter der Coffeinwirkung sehr wesentlich von der Art des Testobjekts abhängt.

So wird nach Weese[15] die Atmung des überlebenden Leberschnitts durch Coffein in einer Konzentration von 0,1—1,0 : 1000 nur geringfügig gesteigert, während die Atmung des Hirnrindenschnitts bei der Konzentration 1 : 1000 ausgesprochen zunimmt. Dagegen finden Druckrey u. Mitarbeiter[22] am intakten Seeigelei unter Coffein in etwa der gleichen Konzentration eine Senkung des Stoffwechsels; dabei ist bemerkenswert, daß es sich auch hier um eine Sonderwirkung des Coffeins handelt, die von zahlreichen anderen untersuchten Schädigungen nur noch vom Colchicin geteilt wurde. Vergleichsweise wäre hier zu erwähnen, daß unsere eigenen Coffeindosen im Blut des H. L. P. etwa eine Konzentration von 0,2—0,4 : 1000 bedingen.

5. Besprechung der Ergebnisse.

Zum Schluß soll noch kurz auf die Bedeutung unserer Befunde für klinische Fragestellungen eingegangen werden. Hier scheint es uns besonders wichtig zu sein, daß das Coffein ein Medikament darstellt, dessen Toxizität bei Überdosierung vor allem in einer schweren Stoffwechselschädigung des Herzmuskels beruht, einer Schädigung, wie sie bisher mit anderen Giften unter sonst gleichen hämodynamischen Bedingungen nicht beobachtet wurde. Dabei liegt im Tierversuch die Dosis, bei der solche Wirkungen auftreten, außerordentlich nahe an den therapeutischen Dosen, mit denen es gelingt, ein hämodynamisch insuffizientes Herz in seiner Leistung zu bessern (Milchsäureabgabe in unseren Versuchen bei 150—450 mg pro H. L. P., therapeutische Dosen nach der Literatur 50—200 mg). Es kann somit keineswegs gefolgert werden, daß unsere Coffeindosen am H. L. P. so hoch sind, daß sie für klinische Fragestellungen belanglos sind, nachdem sich auf den nur wenig niedrigeren Dosen der experimentellen Coffeintherapie die klinisch bedeutungsvolle Vorstellung einer günstigen Herzwirkung des Coffeins aufbaut. Außerdem ist am H. L. P. Herzgewicht und Blutmenge etwa $^1/_3$ so groß wie beim Menschen, so daß die für eine derartig toxische Coffeinwirkung nötigen Dosen beim Menschen durchaus nicht außer dem Bereich des Möglichen liegen.

---

[21] Eppinger u. Wagner: Wiener Arch. f. Inn. Med. **1**, 83 (1920). — [22] Brock, Druckrey u. Herken: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 136 (1938).

Wir glauben auch in unseren Befunden einer besonderen Coffeinschädigung des Herzstoffwechsels — neben der cerebralen Coffeinwirkung — eine Begründung dafür zu sehen, wenn manche Patienten, insbesondere Herzpatienten, Coffein als Genußmittel nicht vertragen, ebenso aber eine Stütze für den Standpunkt des Arztes, wenn er vor Coffeinüberdosierung in diesen Fällen warnt. Die theoretisch bestehenden Differenzen in der für die toxische Wirkung nötigen Coffeindosis zwischen H.L.P. und Mensch können u. E. in praxi durch besondere individuelle Empfindlichkeit durchaus ausgeglichen werden. Vielleicht tragen unsere Versuche so zu einer experimentellen Fundierung alter ärztlicher Erfahrung bei.

Zusammenfassung.

1. Am isolierten Herz-Lungenpräparat wurde die Wirkung von Coffein auf den Milchsäurestoffwechsel untersucht.

2. Während kleine Coffeindosen den für das Herz typischen Milchsäureverbrauch meist nicht beeinflußten, kam es im allgemeinen dann zu einer Milchsäureabgabe des Herzens, wenn toxische Dosen, die auch zu hämodynamischen Insuffizienzerscheinungen führten, gegeben wurden.

3. Die Milchsäureabgabe des Herzens ist teilweise nur vorübergehend, der Glykogenbestand des Herzens bleibt dabei unverändert.

4. Unter der Coffeinschädigung steigt der Sauerstoffverbrauch des Herzens leicht an, es bestehen also sicher aerobe Bedingungen.

5. Bei Vergleichsuntersuchungen mit Euphyllin wurde eine Milchsäureabgabe nicht beobachtet.

6. Die Lunge im H.L.P. gibt — in Bestätigung von Evans — normalerweise Milchsäure an das Blut ab.

7. Gleichzeitig mit dem Einsetzen einer Milchsäureabgabe im Herzen kommt es unter toxischen Coffeindosen auch in der Lunge zu einer Umkehr des Milchsäurestoffwechsels, also hier zu einer Milchsäureaufnahme.

8. Die Annahme einer Konstanz des Lungenstoffwechsels für verschiedene experimentelle Bedingungen besteht nicht zu Recht.

9. Die besondere Wirkung toxischer Coffeindosen auf den Herzstoffwechsel erscheint auch für klinische Fragestellungen bedeutungsvoll.

Aus der II. Medizinischen Universitätsklinik der Charité, Berlin.
(Direktor: Prof. Dr. G. v. Bergmann.)

Anoxie und Milchsäurestoffwechsel von Herz und Lunge.

Von

A. Rühl und **S. Thaddea.**

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 31. Oktober 1938.)

In früheren Untersuchungen von Rühl[1, 2, 3] hatte der Nachweis geführt werden können, daß die Insuffizienz des Herzens, wie sie sich durch Histamin und Barbitursäuren im Experiment (Herz-Lungenpräparat, H.L.P.) erzeugen läßt oder spontan entsteht, mit einer Abnahme des Sauerstoffverbrauchs oder zumindest nicht mit einer der Dilatation entsprechenden (Starling und Visscher[4]) Zunahme desselben einhergeht. Diese Befunde sind inzwischen mit der gleichen oder mit anderen Methoden der Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs bestätigt worden (für Histamin[5, 6], für Barbitursäuren[6, 7], für die Spontaninsuffizienz[8]). Weiterhin fand sich, daß die Abnahme des Sauerstoffverbrauchs zum Teil stärker ist als die Abnahme der Herzleistung, so daß sich hier eine „Besserung" des oxydativen Wirkungsgrades der geleisteten Arbeit errechnen ließ. Diese „Besserung" wurde von Anfang an als fiktiv bezeichnet; der Anstieg der RQ.-Werte gab Veranlassung, bei der Insuffizienz eine durch Sauerstoffmangel bedingte Acidose zu vermuten, wobei diese Acidose — mit Abnahme des Sauerstoffverbrauchs — jetzt durch Gollwitzer-Meier[9] am spontaninsuffizienten Herzen auch direkt nachgewiesen werden konnte. Die Art der hier vor sich gehenden Stoffwechselprozesse konnte bislang nicht geklärt werden; denn die naheliegendste Erklärung, analog den Verhältnissen am quergestreiften Muskel, eine vermehrte Milchsäurebildung sowie ein Milchsäuredebt anzunehmen, mußte auf Grund der Kenntnis des besonderen Milchsäurestoffwechsels des Herzens fallen gelassen werden, nachdem das insuffiziente Herz ebenso wie das suffiziente (mit Ausnahme der Coffeinschädigung[10]) einen Milchsäureverbrauch aufzuweisen hatte[11].

Entgegenstehende Befunde von Gottdenker und Rothberger[12], die eine Milchsäureabgabe zum Teil schon am intakten Herzen des H.L.P. beschrieben

[1] Rühl: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**, 568 (1933). — [2] Rühl: Ebenda **174**, 96 (1933). — [3] Rühl: Ebenda **187**, 22 (1937). — [4] Starling u. Visscher: J. Physiol. (Brit.) **62**, 243 (1927). — [5] Peters u. Visscher: Amer. Heart J. **11**, 273 (1936). — [6] Gollwitzer-Meier u. Krüger: Arch. Physiol. **238**, 251 (1936). — [7] Kiese: Klin. Wschr. **1937**, S. 1219. — [8] Gollwitzer-Meier: Arch. Physiol. **237**, 68 (1936). — [9] Gollwitzer-Meier, Häußler u. Krüger: Ebenda **239**, 120 (1937). — [10] Rühl u. Thaddea: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 438 (1938). — [11] Rühl (u. Thaddea): Klin. Wschr. **13**, 1529 (1934). — [12] Gottdenker u. Rothberger: Arch. Physiol. **237**, 59 (1936).

haben, stimmen weder mit den Beobachtungen der Literatur[13, 14, 15] noch mit späteren eigenen Ergebnissen von Gottdenker[16] selbst überein und sind deshalb u. E. nicht von Bedeutung.

Eine Milchsäureabgabe des Herzens fand sich bei früheren Untersuchungen zusammen mit Rolshoven[17] erst, wenn durch Cyanidvergiftung eine vollkommene Anoxie im Herzmuskel gesetzt wurde. In den jetzigen Untersuchungen sollte die Grenze des Sauerstoffmangels, von der ab das Herz Milchsäure abgibt, festgestellt und damit die Empfindlichkeit des physiologischen Milchsäureverbrauchs des Herzens gegen Anoxie überhaupt klargelegt werden.

Ergebnisse.

1. Milchsäurestoffwechsel unter Histamin.

Wir fassen hier zunächst neue und ältere Befunde am H.L.P. unter Histamin zusammen, also der Schädigung, die zu einer besonders starken Abnahme des Sauerstoffverbrauchs führt. Dabei ist diese Abnahme u. E. endogen, d. h. durch eine Störung der kapillaren Sauerstoffdiffusion bedingt, da Coronardurchblutung und arterielle Sättigung für eine genügende Sauerstoffversorgung durchaus ausreichen[1].

Die Versuchsmethodik entspricht bei diesen und den folgenden Untersuchungen völlig der vorausgehenden Mitteilung[10].

Von anderen Schädigungen wurde außer den 1934 veröffentlichten[11] noch besonders die Pernoctonschädigung des Herzens untersucht. Die Ergebnisse bestätigten grundsätzlich einen ungeachtet Insuffizienz und Sauerstoffmangel auch bei Druckbelastung des Herzens noch zunehmenden Milchsäureverbrauch[18], so daß hier auf eingehendere Veröffentlichung verzichtet werden kann.

Die Befunde der Tabelle 1 zeigen unter Histamin zum Teil außerordentlich starke Abnahmen des Sauerstoffverbrauchs zusammen mit der für die Histaminschädigung charakteristischen Zunahme der RQ. Eine schwere hämodynamische Insuffizienz ist nur in Versuch 3 eingetreten, während dieselbe in Versuch Nr. 1 und 2 nur gering war (vgl. Vorhofdrucke in Stab 2 und 3, Herzleistung in mkg in Stab 10 der Tabelle 1).

In der Tabelle sind auch Beobachtungen bei kleinsten Histamindosen aufgenommen. Im ersten Versuch kam es hierbei schon bei 0,2 mg Histamin zu einer Abnahme des O_2-Verbrauchs, dagegen in Versuch Nr. 3 nach 0,1 mg, wohl als Ausdruck einer kapillarisierenden günstigen Wirkung so kleiner Dosen (Klein[19]), zunächst zu einer O_2-Verbrauchszunahme (ähnlich auch Gollwitzer-Meier[6]).

---

[13] Himwich u. a.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **25**, 347 (1928). — [14] Mc Ginty: Amer. J. Physiol. **98**, 244 (1931); Mc Ginty u. Miller: Ebenda **103**, 712 (1933). — [15a] Evans, L. u. a.: J. Physiol. (Brit.) **80**, 21 (1933). — [15b] Quart. J. exper. Physiol. **24**, 347 (1935). — [16] Gottdenker: Klin. Wschr. **16**, 1282 (1937). — [17] Rolshoven: Z. exper. Med. **90**, 225 (1933); Rühl u. Rolshoven: Klin. Wschr. **12**, 746 (1933). — [18] Rühl: Zbl. inn. Med. **59**, 242 (1938). — [19] Klein: Klin. Wschr. **17**, 504 (1938).

Tabelle 1.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Hund, Gewicht, Narkose	Zeit nach Versuchsbeginn	mm H_2O Vorhofdruck		Coronarausfluß	Milchsäure: Differenz Arterie—Coronarvene	Milchsäure: Verbrauch	Differenz Art. pulm. —Arterie	O_2-Verbrauch	RQ.	mkg/Min.	
		re.	li.	ccm/Min.	mg%	mg/Min.		ccm/Min.			
1. 14,0 kg	0h 38′	45		120	— 0,9	1,8		10,0	1,08	1,46	
1,2 Chloral.	40										0,2 mg Hist.
10 E Insulin	42	46		144	— 1,6	3,8		9,1	1,27	1,44	
2,0 Dextrose	52	43		130	— 1,8	3,9		8,8	1,30	1,45	
	59										2,0 mg Hist.
	1 02	55		264	— 2,9	12,8		4,0	2,65	1,44	
	17	47		170	— 3,3	9,4		5,5	1,68	1,28	
	28	44		176	— 4,2	12,3		8,6	1,16	1,23	
2. 12,5 kg	0h 36′	47	75	58	— 2,2	2,1					
1,1 Chloral.	41	45	72	58	— 1,5	1,5		9,6	0,87	0,92	
10 E Insulin	45										
2,0 Dextrose	1 00										10,0 mg Hist.
	04	55	62	176	— 1,1	3,2		5,0	1,71	0,94	
3. 11,0 kg	0h 41′	62	73	39	— 3,2	2,1	+ 2,0				
0,2 Evipan	51	62	74	41	— 3,8	2,6	+ 2,2				
0,02 Mo.	1 17	55	65	84	— 2,8	3,9	+ 1,0	4,3	1,03	0,79	
5 E Insulin	23										0,1 mg Hist.
0,5 Dextrose	27	50	62	118	— 2,9	5,7	+ 1,0	6,3	0,91	0,76	
	37	52	68	104	— 2,0	3,5	+ 0,8	4,4	1,39	0,83	
	40										3,0 mg Hist.
	43	88	98	164	— 1,7	4,7	+ 1,0	2,9	1,80	0,63	
	49	76	108	142	— 1,8	4,3	+ 1,4	4,4	1,35	0,60	
	59	73	111	120	— 1,9	3,8	+ 1,9				

Was nun die Milchsäurewerte anlangt, so kommt es trotz Insuffizienz, Abnahme des Sauerstoffverbrauchs und steigender RQ., nicht zu einer Milchsäureabgabe des Herzens. Die Milchsäuredifferenzen Arterie—Coronarvene schwanken etwas in der Größenordnung, werden im ersten Versuch größer, im letzten kleiner (Stab 5); nachdem unter Histamin die arteriovenösen Sauerstoffdifferenzen stets sehr stark abnehmen, zeigen diese Zahlen außerdem, daß das Herz Milchsäure aus dem Blute wesentlich besser herauszuholen vermag, als seinen Sauerstoffbedarf. Die Berechnung des gesamten Milchsäureverbrauchs ergibt im allgemeinen eine Zunahme unter Histamin (Stab 6).

Im ganzen unterstreichen diese Histaminversuche noch einmal die eingangs vertretene Auffassung, daß Insuffizienz und Abnahme des Sauerstoffverbrauchs den Milchsäureverbrauch des Herzens qualitativ unberührt lassen, quantitativ eher steigern.

2. Versuche mit Stickstoffbeatmung des H. L. P.

Die Stickstoffbeatmung wurde gewählt als Beispiel für eine aus äußeren Gründen erfolgende Einschränkung der Sauerstoffzufuhr zum Herzen, wie sie die Abnahme der arteriellen Sauerstoffsättigung und damit der Sauerstoffspannung darstellt.

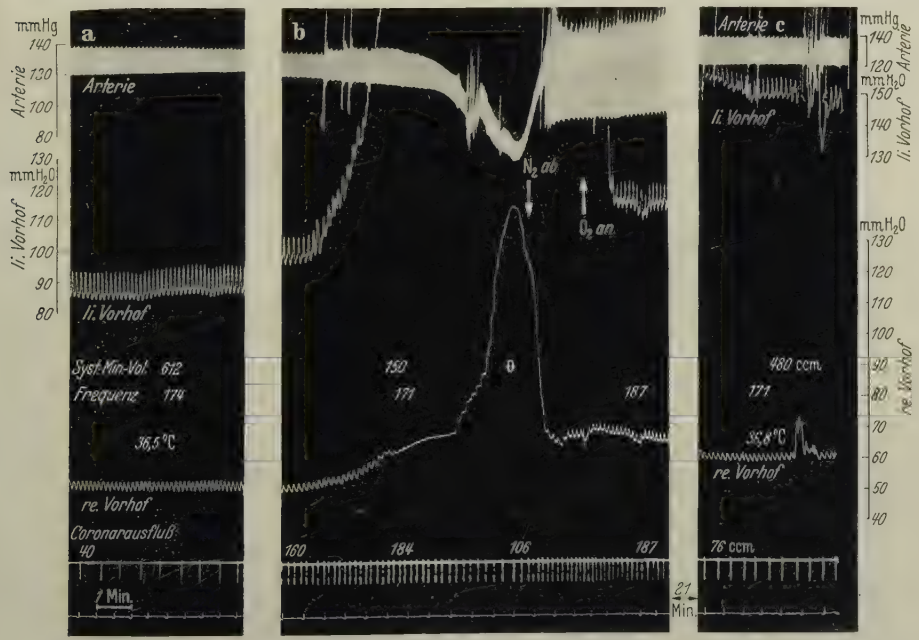


Abb. 1. Vorhofdrucke, Arteriendruck, Minutenvolumen, Coronarausfluß und Frequenz a) vor, b) auf der Höhe (14 Min. nach Beginn) und c) nach Stickstoffbeatmung des H. L. P. Versuch Nr. 4.

Tabelle 2.

Hund, Gewicht, Narkose	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
	Zeit nach Versuchsbeginn	Vorhofdruck mm H_2O		Coronarausfluß	Milchsäure: Arterie	Milchsäure: Differenz Arterie—Coronarvene	Milchsäure: Verbrauch	Milchsäure: Differenz Art. pulm.—Arterie	Arterielle Sättigung	O_2-Verbrauch	RQ.	mkg/Min.	
		re.	li.	ccm/Min.	mg%	mg%	mg/Min.	mg%	%	ccm/Min.			
1. 11,5 kg	0h 42′	29	62	32	26,5	— 3,7	2,0						
0,4 Evipan	48	29	59	33	27,0	— 4,0	2,2		90,4	7,1	0,77	0,90	
0,04 Mo.	49												N_2 an
5 E Insulin	1 04	120	358	134	26,5	— 2,5	5,6		8,0	1,1	1,90	0,31	
1,0 Dextrose	05												N_2 ab
	15	40	92	70	26,8	— 3,2	3,7		87,7	5,4	0,94	0,74	Arrhythmie!
	16												N_2 an
	27	114	426	129	27,2	— 0,7	1,5		10,6	2,8	1,54	0,28	
	28												N_2 ab
	42	44	108	165	27,0	— 3,0	8,2		90,8	3,7	0,76	0,95	Arrhythmie!
2. 11,6 kg	1h 11′	40	78	95	22,2	— 2,2	3,7		83,8	4,8	1,06	1,05	
0,35 Evipan	16	38	68	110	22,0	— 2,5	4,6			5,2	1,07	1,08	
0,04 Mo.	17												N_2 an
5 E Insulin	32	44	88	134	21,0	— 1,4	3,1						
1,0 Dextrose	48	58	100	162	22,2	— 2,2	5,9						
	2h 11	74	126	135	23,6	— 1,4	3,1		21,8	4,5	1,31	0,69	
	16	80	142	130	25,0	— 1,0	2,2						
	17												N_2 ab
	20												O_2 an
	29	79	125	101	25,6	— 1,0	1,7		96,0	3,3	1,45	0,66	Extrasystolie!
	42	92	174	75	22,2	— 2,2	2,7			2,5	1,36	0,62	
3. 14,0 kg	0h 42′	62	107	33	21,0	— 2,9	1,6	+ 1,5	84,3	6,2	0,98	0,93	
0,35 Evipan	1 03	59	104	45	20,0	— 2,7	1,9	+ 1,4	87,8	6,5	0,99	0,98	
0,04 Mo.	09												N_2 an
5 E Insulin	15	53	101	88	20,0	— 2,0	2,8	+ 1,0					
1,0 Dextrose	23	61	114	153	20.5	— 1,4	3,6	+ 0,5	24,0	7,0	1,0	1,09	
	26	117	> 200	148	19,0	+ 4,5	(— 11,1)	— 2,0					

		27	135	200	124	17,3	+ 3,7	(−7,6)	− 2,7				
		28											N_2 ab
		32	75	180	144	21,0	− 1,5	3,6	+ 1,0				
		35											O_2 an
		42	63	134	89	21,0	− 2,0	3,0	+ 1,0	95,4	6,2	1,09	0,84 Extrasystolie !
		2 05	71	127	66	21,0	− 2,6	2,9	+ 1,5	96,9	5,2	1,22	0,82
		16	70	120	79	21,6	− 2,6	3,4	+ 1,4				2^h 07′ O_2 ab
		32	83	145	106	22,2	− 2,2	3,9	+ 1,2				
		34											
		44	84	144	116	22,0	− 2,0	3,9	+ 1,0				N_2 an
		51	88	150	116	21,4	− 0,9	1,7	+ 0,4				
		3 04	132	> 200	108	20,0	+ 2,0	(−3,6)	− 1,2				
		07	148	> 200	38	20,0	+ 4,5	(−2,8)	− 3,0				
		09											Glykogen 514 mg%
4.	10,4 kg	0^h 45′	53	93	40	18,0	− 2,7	1,8	+ 1,0	91,5	8,3	1,02	1,37
	0,25 Evipan	54	52	88	41	18,8	− 3,8	2,6	+ 1,8		8,7	0,99	1,37
	0,04 Mo.	56											N_2 an
	5 E Insulin	1 04	52	100	101	18,0	− 2,0	3,4	+ 1,0				
	1,0 Dextrose	11	67	> 200	184	16,0	+ 4,0	(−12,2)	− 2,0	16,8	3,7	1,19	0,90
		14	139	> 200	106	17,0	+ 4,0	(− 7,1)	− 2,0				
		15											N_2 ab
		17											O_2 an
		21	64	118	87	19,0	− 1,6	2,6	+ 1,0				
		28	60	154	80	18,6	− 1,4	1,9	+ 0,8	97,2	6,7	1,14	1,20
		52	63	149	75	19,2	− 1,2	1,5	+ 0,4	100	8,1	1,14	1,27
5.	10,5 kg	0^h 40′	30	64	46	22,5	− 2,7	2,2	+ 1,5				
	0,2 Evipan	53	36	88	25	23,0	− 4,0	1,7	+ 2,0				
	0,02 Mo.	1 00	37	92	27	23,4	− 3,9	1,8	+ 2,4	88,5	4,9	0,90	1,87
	0 Insulin	03											N_2 an
	0 Dextrose	08	44	146	78	22,0	− 2,0	2,6	+ 1,0	38,6	5,9	0,83	1,69
		10	133	> 200	117	21,5	− 0,5	1,0	+ 0,5	20,6	4,2	0,99	0,59
		11	140	> 200	111	21,2	+ 0,8	(− 1,5)	− 0,3				
		12	140	> 200	66	21,5	+ 1,5	(− 1,7)					
		13											O_2 an
		15	84	> 200	95	22,0	+ 1,0	(− 1,6)	± 0	78,4	4,6	0,82	1,39 Arrhythmie
		29	70	> 200	31	22,5	− 1,5	0,8	+ 0,9	95,8	4,6	0,94	1,57
		30											N_2 an
		44	140	> 200									
		46											Glykogen 538 mg%

Die Versuche wurden dabei so angelegt, daß die Erstickung bis zur schwersten hämodynamischen Schädigung durchgeführt und dann wieder auf Luft- bzw. Sauerstoffatmung umgeschaltet wurde; auf diese Weise sollte auch durch Untersuchungen in der Nachperiode der Erstickung die Frage eines etwaigen Debts noch einmal geprüft werden. Zur Vermeidung einer Austrocknung des Präparats wurden Stickstoff und Sauerstoff vor der Atmungspumpe durch eine Waschflasche geleitet[20].

Die hämodynamischen Verhältnisse bei dieser Versuchsanordnung zeigt typisch die Abb. 1. Charakteristisch für die Stickstoffbeatmung ist die seit Gremels und Starling[21] bekannte starke Steigerung der Coronardurchblutung, die dem Ausgleich der Abnahme der arteriellen Sauerstoffsättigung dient. Erst bei schwerster Schädigung sinkt die Coronardurchblutung im Gefolge des stürzenden arteriellen Druckes ab. Unter O_2-Atmung erfolgt — nach einer anfänglichen weiteren Periode stärkster Steigerung — dann eine dem Wegfall des Sauerstoffmangels entsprechende Abnahme, die jedoch meist zum Ausgangswert nicht zurückkehrt (vgl. auch Tabelle 2, Stab 4). Die bei der Erstickung einsetzende Insuffizienz betrifft das linke Herz früher und stärker als das rechte (siehe Vorhofdrucke in Abb. 1, ebenso Stab 2 und 3 der Tabelle 2). Auffällig ist die lange Resistenz des Herzens gegen den arteriellen O_2-Mangel, so daß noch bei sehr niedrigen Werten relativ gute Leistungen möglich sind, wie Stab 9 und 12 der Tabelle 2 zeigen. Die Zeit bis zum Einsetzen der schweren Erstickungsschädigung wechselt in den verschiedenen Versuchen sehr und hängt anscheinend von Größe und Art der künstlichen Ventilation sowie vom Minutenvolumen ab.

Im Anfang der Stickstoffbeatmung kann sogar eine geringe vorübergehende Besserung des Herzens, wohl infolge Abnahme des arteriellen Widerstandes bei zunehmender Coronardurchblutung, beobachtet werden. Mit der O_2-Atmung wird die Insuffizienz meistens, wenigstens teilweise behoben; im Beginn der O_2-Zufuhr kommt es dabei nahezu regelmäßig zu schwersten Rhythmusstörungen, die sich später wieder ausgleichen können. Elektrokardiographisch handelt es sich hier um eine extrasystolische Arrhythmie, während zur Zeit der Erstickung selbst vor allem Überleitungsstörungen zur Beobachtung kamen.

Der Sauerstoffverbrauch (Stab 10) unter den Bedingungen der Stickstoffatmung hängt weitgehend von dem Stadium der jeweiligen Schädigung ab, in dem man untersucht. Die von uns verwandte Methode der Sauerstoffverbrauchsbestimmung ermöglichte nur Stichproben; der letzte Grad der Schädigung unmittelbar vor Absetzen des Stickstoffs wurde nur in Versuch Nr. 1 erfaßt. Es fand sich — in Bestätigung früherer Ergebnisse[3] — bei ausgesprochener Erstickungsschädigung eine erhebliche Abnahme des Sauerstoffverbrauchs in Versuch Nr. 1 und 4, geringer in Versuch Nr. 2 und 5. Zu Beginn der Stickstoffatmung kam es in Versuch Nr. 3 und 5 zu einer geringen Steigerung des Sauerstoffverbrauchs. Nach

[20] Anrep u. Cannen: J. Physiol. (Brit.) **58**, 244 (1923). — [21] Gremels u. Starling: Ebenda **61**, 297 (1926).

diesen Zahlen kann offenbar die Abnahme der Sättigung sehr lange durch die Zunahme der Coronardurchblutung einigermaßen ausgeglichen werden. Leistung und Sauerstoffverbrauch lassen je nach Abfall der Leistung (Stab 12) bzw. Grad der O_2-Verbrauchssenkung wechselnde Beziehungen erkennen. Die RQ.-Werte nehmen auf der Höhe der Erstickung zum Teil erheblich zu.

Das Verhalten des Milchsäurestoffwechsels bei der Erstickung ergibt sich aus den Stäben 5 bis 7 der Tabelle 2, wobei besonderer Wert auf den Vergleich mit den Zahlen der arteriellen Sättigung in Stab 9 zu legen ist. Dabei zeigt sich, daß eine Milchsäureabgabe erst bei ganz extrem niedrigen arteriellen Sättigungen und auch da nicht regelmäßig eintritt, anfänglich vielfach sogar noch eine gesteigerte Milchsäureaufnahme beobachtet wird. So finden wir in den beiden ersten Versuchen überhaupt keine Milchsäureabgabe, trotzdem im ersten Versuch noch bei einer Sättigung von 8% (!) die Milchsäurewerte bestimmt werden konnten. Auch im zweiten Versuch wurde die Grenze von 20% Sättigung sicher unterschritten. Dagegen kam es in den Versuchen Nr. 3 bis 5 zu einer Milchsäureabgabe. Besonders eindrucksvoll ist hier wohl Versuch Nr. 3, der auch der späteren Abb. 2 zugrunde liegt. Die Milchsäureabgabe konnte hier in zwei aufeinanderfolgenden Erstickungsperioden demonstriert werden, wobei der Abgabe zunächst eine Einschränkung der arteriovenösen Milchsäuredifferenzen voranging. Die Milchsäureabgabe beginnt jenseits der Grenze von 24 Sättigungsprozent. Die Grenze liegt im Versuch Nr. 4 bei 17%, in Versuch Nr. 5 wird bei 20,6% Sauerstoffsättigung noch eine, wenn auch verminderte Milchsäureaufnahme, dann erst eine Abgabe gesehen.

Der Sauerstoffmangel, von dem ab der normale Milchsäureverbrauch des Herzens nicht mehr aufrechterhalten werden kann, liegt also unterhalb der Grenze von 25 Sättigungsprozenten, kann aber bis an die totale Anoxie (8% Sättigung!) heranreichen.

Damit finden auch die Differenzen, die zwischen eigenen früheren Versuchen[11], in denen wir bei 42 bzw. 51 Sättigungsprozent noch eine gesteigerte Milchsäureaufnahme fanden, und den Befunden von Evans[15a], der bei Stickstoffbeatmung nur in vereinzelten Versuchen dasselbe Ergebnis, sonst aber entweder einen verminderten Milchsäureverbrauch oder eine Milchsäureabgabe gesehen hatte, eine einwandfreie Klärung. Entscheidend ist der Grad der Anoxie, wobei nur die außerordentliche Resistenz des Milchsäurestoffwechsels des Herzens nochmals betont werden muß. Durch unsere Befunde ist wohl auch weiterhin die Beziehung vom Säugetierherzen zu den bekannten Befunden am Froschherzen gegeben, nach denen unter komplettem Sauerstoffabschluß eine Milchsäurebildung auftritt (Clark[22], Gottdenker und Wachstein[23] u. a.), die bei Belastung noch zunimmt (Riesser[24]).

---

[22] Clark u. a.: J. Physiol. (Brit.) **75**, 321 (1932). — [23] Gottdenker u. Wachstein: Biochem. Z. **267**, 192 (1933). — [24] Riesser u. Nagaya: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **138**, 136 (1928).

Ähnlich wie in den vorausgehenden Coffeinversuchen wurde auch bei Erstickung der Glykogenbestand des Herzens durch die Milchsäureabgabe nicht angegriffen. Unsere auf der Höhe der Erstickung vorgenommenen Glykogenbestimmungen zeigen in Tabelle 2 mit 514 und 538 mg% Werte, die als völlig normal zu bezeichnen sind; ein Beweis mehr, wie außerordentlich fest das Herz seinen Glykogenbestand hält und nicht einmal so gut wie völlig anaerobe Bedingungen zur Glykogenolyse führen. Die Milchsäureabgabe an das Blut muß hiernach ebenfalls durch Bildung aus Stoffwechselzwischenstufen oder möglicherweise durch pathologische Diffusion erklärt werden. Die letztere Hypothese gewinnt bei der auffälligen Gleichzeitigkeit des Zusammenbruchs des normalen Milchsäurestoffwechsels in Herz und Lunge (siehe später) eine gewisse Wahrscheinlichkeit.

Unsere Befunde eines normalen Glykogengehalts des Herzmuskels trotz nahezu völliger Erstickung finden in den bisherigen Angaben der Literatur keinen Vorgang. Am Froschherzen, das ja anaerobe Bedingungen außerordentlich lange verträgt, nimmt hierbei der Glykogengehalt stark ab (Clark[22] u. a.). Am Herzen des H.L.P. haben Visscher und Mulder[25] in vereinzelten Erstickungsversuchen nach wenigen Minuten sehr starke Glykogenverluste gesehen, auch Gerald Evans[26] hat am Ganztier (Ratte) bei O_2-Konzentrationen von 5—6% Abnahmen des Herzglykogens auf etwa die Hälfte und weniger beobachtet; dabei können allerdings am ganzen Organismus noch besondere Einflüsse von seiten des endokrinen Systems zur Auswirkung gelangen. Interessanterweise nimmt bei O_2-Mangel der Zuckerverbrauch des H.L.P.-Herzens, der sonst gegenüber dem Milchsäureverbrauch stark zurücktritt (L. Evans[15a]) erheblich zu.*

Die Tabelle 2 enthält nun auch die Befunde, die bei der an die Erstickung angeschlossene Sauerstoffatmung erhoben wurden. Nach unseren Ergebnissen glauben wir die Möglichkeit eines Sauerstoffdebts des Herzmuskels mit größter Wahrscheinlichkeit ablehnen zu können. Bei keiner unserer Sauerstoffverbrauchsbestimmungen, die jeweils zu verschiedenen Zeiten nach Absetzen der Stickstoffatmung vorgenommen wurde, konnte ein höherer Sauerstoffverbrauch als bei den Vorwerten gefunden werden. Ganz im Gegenteil wird trotz einer auch unter Sauerstoffatmung noch bestehen bleibenden Dilatation, trotz der Rhythmusstörung, die nach Gremels[27] einen zusätzlichen Sauerstoffverbrauch bedingt,

[25] Visscher u. Mulder: Amer. J. Physiol. **94**, 630 (1930). — [26] Evans, G.: J. Physiol. (Brit.) **82**, 468 (1934). — [27] Gremels: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 1 (1936).

* Anmerkung bei der Korrektur: In einer kürzlich erschienenen Arbeit aus dem Institut von L. Evans über den Milchsäurestoffwechsel des vollkommen isolierten H. L. P. Herzens bei N_2-Atmung finden Bogue, Chang u. Gregory [Quarterly J. of exp. Physiol. **27**, 319 (1938)] ebenso wie wir zunächst Steigerung des Milchsäureverbrauchs, dann Abnahme, vereinzelt auch eine Milchsäureabgabe des Herzens; letzteres erst bei O_2-Spannungen im arteriellen Blute von 15—30 mm, was etwa unsern Sättigungswerten entspricht. Auch diese Autoren beobachteten normale Glykogenwerte im Herzmuskel trotz Erstickung, solange Blutzucker und Blutmilchsäure normal hoch blieben. Zur Verminderung des Herzglykogens unter N_2 kam es in ihren Versuchen nur dann, wenn die Blutzucker- und Milchsäurewerte im Präparat stark absanken; bei hohen Blut-Milchsäurewerten wurde noch ein normaler Glykogengehalt auch bei völlig aufgebrauchtem Blutzucker (!) gefunden.

der ursprüngliche Wert meist nicht erreicht; es kann sogar ungeachtet zunehmender hämodynamischer Insuffizienz der Sauerstoffverbrauch weiter abnehmen. Auch die RQ bleiben unter Sauerstoff relativ hoch. Die Milchsäurewerte zeigen unter Sauerstoffatmung stets wieder die Rückkehr zum normalen Milchsäureverbrauch, ohne daß in der Größe der arteriovenösen Differenz oder des Gesamtverbrauchs irgendwelche Besonderheiten festzustellen wären. Besonders hinweisen möchten wir auf Versuch Nr. 5, bei dem 2 Minuten nach Einsetzen der Sauerstoffatmung noch eine Milchsäureabgabe zu beobachten war; der Beginn der Erholung des durch die Erstickung gestörten Milchsäurestoffwechsels setzt also wohl nicht unmittelbar mit der Sauerstoffatmung ein.

Kurz muß hier auch noch auf die schweren extrasystolischen Rhythmusstörungen eingegangen werden, die nahezu regelmäßig zu Beginn der Sauerstoffatmung auftreten. Wir glauben hier nicht an eine schädigende Sauerstoffwirkung, sondern halten es vielmehr für wahrscheinlich, daß dieselben auf besondere Stoffwechselprodukte (Adenylsäure?) zurückzuführen sind, die während der letzten Erstickungsperiode entstehen und erst mit der nach einsetzender Sauerstoffatmung beginnenden Erholung aus dem Gewebe ausgeschwemmt werden können; so kam es auch schon bei Luftatmung nach der Erstickung ebenfalls zu Rhythmusstörungen, (vgl. Vers. Nr. 1, auch Abb. 1).

3. Milchsäurestoffwechsel in der Lunge bei Stickstoffatmung.

In der vorangehenden Mitteilung[10] konnte in Bestätigung der Angaben von Evans[28] gezeigt werden, daß in der Lunge ständig Milchsäure gebildet und ans Blut abgegeben wird. Bei toxischen Coffeindosen kam es dann in der Lunge zusammen mit dem Einsetzen einer Milchsäureabgabe des Herzens ebenfalls zur Umkehr des physiologischen Verhaltens, also zur Milchsäureaufnahme.

Die Veranlassung zur Untersuchung des Milchsäurestoffwechsels in der Lunge war bei den Stickstoffversuchen noch mehr gegeben als bei den Coffeinversuchen. Denn war schon bei diesen der Milchsäurespiegel im H.L.P. nicht so angestiegen, wie es bei einer Milchsäureabgabe des Herzens theoretisch erwartet werden mußte, so war jetzt bei den Stickstoffversuchen Nr. 3 und 4 sogar ein zum Teil erheblicher Abfall der arteriellen Milchsäurewerte eingetreten (vgl. Stab 5, Tabelle 2 und Abb. 2). Derselbe Befund, bei gleichzeitigem Anstieg der Alkalireserve, ist auch aus der Evansschen Arbeit[15a], Abb. 2 zu entnehmen.

Die Untersuchung des Milchsäurestoffwechsels der Lunge ergibt nun unter Stickstoffbeatmung grundsätzlich dasselbe wie bei den vorangehenden Coffeinversuchen. Normalerweise findet sich in drei Versuchen der Tabelle 2, ebenso auch im Versuch Nr. 3 der Tabelle 1, eine Milchsäurebildung in

[28] Evans, L., Hsu u. a.: J. Physiol. (Brit.) **82**, 41 (1934).

der Lunge, d. h. im arteriellen Blute des H.L.P. mehr Milchsäure als im Pulmonalarterienblut (+ Vorzeichen im Stab 8), genau so lange als auch am Herzen die physiologische Milchsäureaufnahme bestehen bleibt. Zusammen mit der Umkehr des Milchsäurestoffwechsels im Herzen kommt es auch in der Lunge zum Wechsel der Vorzeichen: Im Blute vor der Lungenpassage wird mehr Milchsäure gefunden als im arteriellen Blute d. h. Milchsäure ist in der Lunge verschwunden. Den Gang dieser Veränderungen unter Stickstoffatmung stellt Abb. 2 übersichtlich dar; sie lassen sich hier im gleichen Versuch zweimal zeigen.

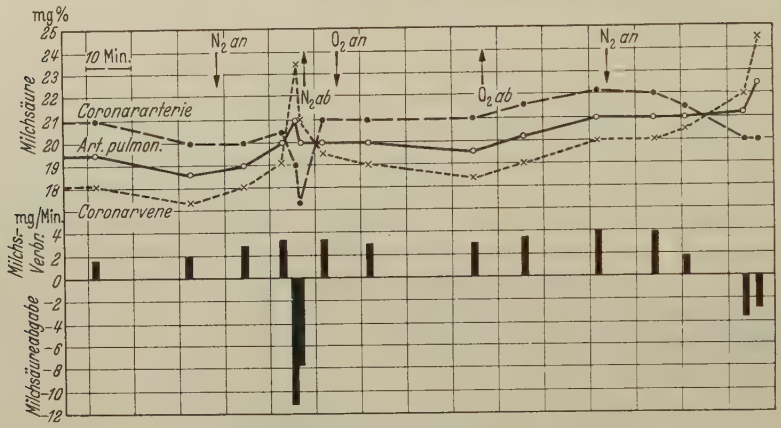


Abb. 2. Milchsäurewerte bei N_2-Atmung. Versuch Nr. 3.

Diese Milchsäureaufnahme unter Bedingungen, die in der Lunge bei der dort herrschenden Stickstoffatmosphäre als so gut wie völlig anaerob angesehen werden müssen, läßt es außerordentlich unwahrscheinlich erscheinen, daß mit der Milchsäure in der Lunge irgendwelche stoffwechselchemischen Umwandlungen erfolgen. Diese Versuche veranlaßten uns vielmehr zu der Annahme, eine einfache Diffusion anzunehmen, die bei der weitgehenden Parallelität des Milchsäurestoffwechsels bei der Stickstoff- und bei der Coffeinschädigung wohl auch für diese letztere Geltung hat (vgl. vorangehende Mitteilung). Auch sind für die Erstickung Veränderungen der gerichteten Permeabilität (Eppinger), die für einen solchen unphysiologischen Diffusionsvorgang Voraussetzung sind, durch die Versuche von Kaunitz[29] sichergestellt. Wir müssen uns hier mit der Annahme einer Diffusion von Milchsäure in die Lunge begnügen, ohne diese infolge der methodischen Bedingungen des H.L.P. auch beweisen zu können. Auch die Untersuchungen bei der an die Erstickung anschließenden Sauerstoffatmung haben nur wieder eine Normalisierung des Milchsäurestoffwechsels der Lunge ergeben, ohne daß eine etwaige

[29] Kaunitz: Z. exper. Med. **100**, 121 (1936).

Rückdiffusion von Milchsäure bei der Kleinheit der Milchsäuredifferenzen im Blute vor und hinter der Lunge sowie der Ungewißheit über den zeitlichen Verlauf zu fassen war. Unabhängig von diesen noch klärungsbedürftigen Fragen erscheint jedoch schon die Tatsache eines durch Erstickung beeinflußbaren Milchsäure-Eigenstoffwechsels der Lunge wert, abschließend besonders betont zu werden.

4. Besprechung der Ergebnisse.

Es war die Hauptaufgabe unserer Versuche, festzustellen, bei welcher Grenze des Sauerstoffmangels das Herz anfängt, Milchsäure abzugeben, nachdem einerseits das Bestehenbleiben eines Milchsäureverbrauchs trotz schwerster Schädigung, andererseits eine Milchsäureabgabe bei der völligen Anoxie der Cyanidvergiftung feststand. Hier konnte durch die Versuche mit Stickstoffbeatmung des H.L.P. eine Klärung gebracht werden. Die Grenze der arteriellen Sättigung, von der ab eine Milchsäureabgabe auftritt, liegt etwa bei 20%. Es können jedoch noch wesentlich tiefere Werte ohne Milchsäureabgabe erreicht werden, so daß offenbar der normale Milchsäurestoffwechsel des Herzens gegen Sauerstoffmangel sehr wenig empfindlich ist. Eine Verminderung der Glykogenbestände des Herzens kam überhaupt nicht zur Beobachtung.

Diese Befunde sind u. E. auch für die Klinik nicht ohne Bedeutung. Das gilt insbesondere für das ganze Fragengebiet der Angina pectoris, bei der unsere pathogenetischen Anschauungen auf dem Begriff der Coronarinsuffizienz, d. h. des absoluten oder relativen Sauerstoffmangels im Herzmuskel basieren. Daß eine einfache Coronarinsuffizienz schon zu einer vermehrten Milchsäurebildung im Herzmuskel führt, scheint uns in Kenntnis der extremen Grade von Anoxie, die im Experiment für den Umsturz des normalen Milchsäurestoffwechsels notwendig sind, wenig wahrscheinlich. Erst bei vollkommener Coronarsperre (vgl. die Befunde bei Pitressinschädigung bei Mc Ginty[14a] und Rolshoven[17]) wird eine Milchsäureabgabe möglich sein.

Weiterhin besteht keinerlei Anhalt dafür, daß etwa zwischen dem insuffizienten Herzen und dem durch Milchsäureanhäufung bei nicht ausreichender Sauerstoffversorgung ermüdeten Skeletmuskel irgendwie vergleichbare Verhältnisse bestehen. Gerade hier haben unsere Versuche gezeigt, daß die muskuläre Insuffizienz des Herzens den physiologischen Milchsäureverbrauch grundsätzlich unbeeinflußt läßt.

Zusammenfassung.

1. Es wurden am H.L.P. (Hundeherz) Versuche zur Feststellung der Anoxie-Grenze durchgeführt, von der ab eine Milchsäureabgabe des Herzens eintritt.

2. Bei der mit Abnahme des Sauerstoffverbrauchs einhergehenden muskulären Insuffizienz des Herzens durch Histamin bleibt der physiologische Milchsäureverbrauch bestehen.

3. Bei Stickstoffbeatmung des H.L.P. kommt es erst bei einer außerordentlich tiefen arteriellen Sättigung (unter 24 %) zu einer Milchsäureabgabe, jedoch auch nicht in allen Versuchen.

4. Der Glykogenbestand des Herzens wird durch die Erstickung nicht angegriffen.

5. Es konnte kein Anhalt dafür gewonnen werden, daß das Herz die Fähigkeit besitzt, eine Sauerstoffschuld einzugehen. Der Sauerstoffverbrauch bei Sauerstoffatmung im Anschluß an die Erstickung erreichte höchstens die Vorwerte. Der Milchsäureverbrauch wurde dabei wieder hergestellt.

6. Die physiologische Milchsäurebildung in der Lunge des H.L.P. wurde auch in dieser Versuchsreihe bestätigt.

7. Zusammen mit der Milchsäureabgabe des Herzens bei Erstickung kommt es in der Lunge zu einer Milchsäureaufnahme; es handelt sich dabei wohl um eine durch Permeabilitätsstörungen bedingte einfache Diffusion.

8. Die geringe Empfindlichkeit des Milchsäurestoffwechsels des Herzens gegenüber Sauerstoffmangel verlangt auch bei klinischen Fragestellungen (Angina pectoris, Herzinsuffizienz) Berücksichtigung.

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der Temmler-Werke, Berlin.

Zur Pharmakologie des 1-Phenyl-2-methylamino-propans (Pervitin).

Von

F. Hauschild.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. November 1938.)

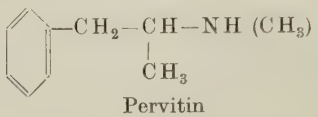
Aus der Reihe der β-Phenylalkylamine finden zahlreiche Substanzen therapeutische Anwendung. Meist enthalten diese Pharmaca eine oder mehrere Hydroxylgruppen im Molekül, wodurch sie sich chemisch in die Reihe der Aminoalkohole bzw. Aminophenole einordnen. Ihre Wirksamkeit erstreckt sich vor allem auf Herz und Kreislauf, die Angriffspunkte liegen im wesentlichen in der Peripherie, zentrale Wirkungen sind weniger stark ausgeprägt.

Ein verstärkter zentraler Effekt wird nun beobachtet, wenn Verbindungen in den Kreis der Untersuchungen gezogen werden, welche reine Amine darstellen. Ein derartiger Körper aus der Reihe der β-Phenylalkylamine ist das den Oxyaminen Ephedrin und Veritol chemisch nahestehende „Pervitin". Bereits die orientierende pharmakologische Prüfung dieser Verbindung zeigte, daß in ihr ein hochwirksamer Körper vorliegt, der in seinen Eigenschaften von den bisher bekannten Substanzen der Ephedrin-Adrenalinreihe erheblich abweicht.

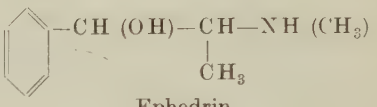
Chemisch stellt das Pervitin die rechtsdrehende Form des 1-Phenyl-2-methylamino-propans dar. Die Salze dieses Amins (Hydrochlorid, Sulfat usw.) sind an der Luft beständig, in Wasser leicht löslich und nicht hygroskopisch. Das Hydrochlorid ist nicht nur in Wasser, sondern auch in Lipoidlösungsmitteln wie Chloroform, Alkohol usw. leicht löslich. Es schmilzt bei 173°.

Wie Pervitin ist das β-Phenylisopropylamin, eine in den letzten Jahren besonders im Ausland meist unter dem Namen „Benzedrine" bekannte und untersuchte Base, ebenfalls frei von jeglichen OH-Gruppen. Es unterscheidet sich vom Pervitin chemisch dadurch, daß die Aminogruppe unsubstituiert, also primär ist und ferner dadurch, daß es ein rein racemisches Gemisch darstellt. Dies sind zwei Tatsachen, die — wie demnächst noch berichtet werden soll — auch pharmakologisch faßbare Unterschiede bedingen. Wie erheblich scheinbar geringfügige strukturchemische Abänderungen in dieser Stoffklasse in bezug auf die pharmakologischen Eigenschaften sind, zeigt ja die Verschiedenheit der bereits eingehend untersuchten Pharmaca wie Ephedrin, Veritol, Sympatol usw. Die Bedeutung der räumlichen Anordnung im Molekül auch in dieser Stoffklasse zeigt die

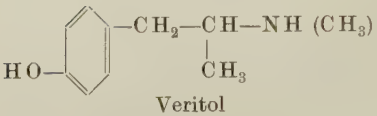
Tatsache, daß Pseudoephedrin im Vergleich zum Ephedrin wesentlich weniger wirksam ist[1]. Die folgenden Formelbilder sollen die chemischen Zusammenhänge aufzeigen:



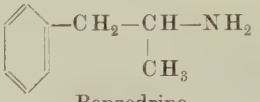
Pervitin



Ephedrin



Veritol



Benzedrine

Aus diesen Formeln ist ersichtlich, daß Pervitin chemisch dem Ephedrin oder Veritol etwa „gleichnahe" steht, da ihm jeweils nur die entsprechende OH-Gruppe der beiden genannten Verbindungen fehlt.

Während die Nor-Verbindung Benzedrine als β-Phenylisopropylamin bereits 1910 von Barger und Dale[2] pharmakologisch geprüft und immerhin schon 1928 zur ersten Anwendung kam — zunächst als Schnupfenmittel —, konnten in der Literatur keinerlei Hinweise über pharmakologische Untersuchungen des 1-Phenyl-2-methylamino-propans (Pervitin) vor denen des Verfassers[3, 4] oder über klinische Untersuchungen vor denen von Schoen[5] und Flügel[6] gefunden werden. — In diesen Untersuchungen wurde bereits über einige Eigenschaften des Präparates berichtet. Schoen konnte am Menschen die anhaltende Kreislaufwirkung bestätigen, auch wies er auf den interessanten psychisch-stimulierenden Effekt des Pervitins hin. Flügel untersuchte die Wirkung des Präparates bei psychischen Hemmungszuständen.

Experimenteller Teil.

Allgemeines Wirkungsbild, Toxikologisches.

Die im folgenden beschriebenen Versuche wurden vor allem an Ratten, Kaninchen und Katzen durchgeführt. Die Dosen, bei welchen bereits Wirkungen durch Pervitin sichtbar wurden, lagen für alle Tierarten bei etwa 0,1—0,2 mg/kg nach intraperitonealer Injektion. Das allgemeine Wirkungsbild war recht charakteristisch. — Die Ratten wurden ein bis zwei Minuten nach der Injektion unruhig und zeigten eine verstärkte Motorik. Durch höhere Dosen wurde diese Wirkung immer intensiver. Bereits bei mittlerer Dosierung von etwa 1—5 mg/kg war das Wirkungsbild äußerst instruktiv. Die Erregung dauerte je nach Dosis 2—20 Stunden an. Nach

[1] Pak u. Read: Chin. J. Physiol. **3**, 81 (1929). — [2] Barger u. Dale: J. Physiol. (Brit.) **41**, 19ff. (1910/11). — [3] Hauschild: Verh. dtsch. pharmak. Ges., Berlin 1938. — [4] Hauschild: Klin. Wschr. Nr. 36, S. 1257 (1938). — [5] Schoen: Verh. dtsch. Ges. Kreislforsch., Bad Nauheim 1938. — [6] Flügel: Klin. Wschr. Nr. 37, S. 1286—1288 (1938).

Abklingen der Wirkung höherer Dosen verfielen die Tiere meist in Schlaf. Der Erregungszustand selbst war durch eine motorische Unruhe der Tiere, verbunden mit eigentümlichen stereotypen Bewegungen, charakterisiert. Die Vorderpfoten waren dauernd in Tätigkeit und vollführten über viele Stunden lang automatisierte Putzbewegungen. Viele Tiere zeigten Manegetrieb, indem sie dauernd im Kreis in ihrem Glas herumliefen, z. T. jonglierten sie mit Futter und Hobelspänen in einem gewissen, wiederkehrenden Rhythmus. Leckbewegungen der Zunge, emsiges Ablecken des Glases sowie der zugänglichen Teile des Körpers wurden häufig beobachtet. Trotz dieses dauernden Leckens, Nagens und Schnupperns wurden Flüssigkeit und Futter verschmäht. Je nach Dosierung bestand eine mehr oder weniger ausgesprochene protrusio bulbi, auch Bluten aus der Nase wurde beobachtet. Vielfach, besonders bei höheren Dosen, fraßen sich die Tiere Pfoten und Bauchdecken in Befriedigung ihres Nagetriebes an, so daß sie heftig bluteten. Krämpfe traten im Gegensatz zur Ephedrinintoxikation nur sehr selten als vereinzelte Anfälle auf. Bei subletalen und letalen Dosen ging das Erregungsstadium meist in ein Lähmungsstadium über. Die Tiere waren dann reflexlos. Während sie noch längere Zeit atmeten, bestand bereits eine recht ausgeprägte Körperstarre, die sich auch viele Stunden nach dem Exitus nicht löste.

Die im Vordergrund des Bildes stehenden Erscheinungen waren bei den einzelnen Tierarten, aber auch unter den Rassegenossen selbst und wiederum bei den gleichen, mehrmals verwendeten Tieren — z. B. Ratten - durchaus schwankend. Mitunter stand bei gleicher Dosierung der Nagetrieb, mitunter der Manegetrieb im Vordergrund. Zeitweise saßen die Tiere mit dem Hinterkörper ruhig und bewegten nur den Vorderkörper, während die gleichen Tiere zu anderen Zeiten rastlos umherliefen oder sich andauernd putzten. Gewisse Schwankungen, die scheinbar auf die jeweilige „Stimmungslage" der Tiere zurückgeführt werden müssen, sowie jahreszeitliche und periodische Einflüsse scheinen von Bedeutung zu sein.

Der Exitus der Ratten erfolgte stets im Stadium der Lähmung durch Atemstillstand. Das Herz schlug meist noch einige Zeit weiter, dabei bestand eine hochgradige Hyperthermie.

Die letalen Dosen wurden in großen Versuchsreihen bei peroraler Verabreichung sowie bei intraperitonealer Injektion ermittelt. Dabei zeigten sich beträchtliche Schwankungen je nach Tierart und Jahreszeit. Zeitweilig betrugen die Schwankungen der Dosis letalis großer Serien bis zu 100%. Ein Einfluß des Körpergewichtes auf die Empfindlichkeit, wie für Benzedrine beschrieben[7], war bei den verwendeten Tieren von 120—200 g Gewicht nicht festzustellen. Die letale Dosis wurde im Laufe eines Jahres an etwa 500 Ratten ermittelt. Sie lag zwischen 1,5—2,5 mg/kg Ratte bei intraperitonealer Injektion, per os lag sie im Mittel nur 2—2,5mal höher. Da

[7] Ehrich u. Krumbhaar: Ann. int. Med. **10**, 1874 (1937).

das Verhältnis der peroral letalen Dosis zu derjenigen per injectione einen Anhalt gibt für die Beurteilung der peroralen Resorptions- und Wirkungsbedingungen eines Pharmakons, scheint dies für eine besonders günstige perorale Wirksamkeit zu sprechen. Vergleichende Versuche mit dem Ephedrin ergaben, daß bei diesem die letale Dosis per os etwa fünfmal höher lag als bei der intraperitonealen Injektion (160 und 800 mg/kg). Dies läßt die Annahme berechtigt erscheinen, daß die peroralen Wirkungsbedingungen des Pervitins noch günstiger sind, als diejenigen des Ephedrins oder gar die bekannter und therapeutisch verwendeter Oxyphenylalkyl- und -alkanolamine; das konnte, wie weiter unten gezeigt werden soll, auch im Blutdruckversuch bestätigt werden.

An höheren Tieren waren die durch Pervitin hervorgerufenen Erscheinungen ähnlich denjenigen der Ratte. Bei sehr niedrigen Dosen waren nur bei genauer Kenntnis des Gebarens und der Gewohnheiten der Tiere Wirkungen zu erkennen. Mit Sicherheit war eine schlafhemmende Wirkung kleiner Pervitindosen festzustellen.

Der Kater Peter, dessen Gewohnheit es war, zwischen 14 —16 Uhr regelmäßig in seiner Ecke zu schlafen, setzte sich, nachdem ihm um 13 Uhr 0,1 mg kg Pervitin per os gegeben war, gegen 14 Uhr wohl in seine Ecke, der übliche Schlaf trat jedoch nicht ein. Obgleich das Tier wiederholt seine typische Schlafstellung einnahm, blieb der Kopf angehoben, das Tier blickte unentwegt in die Umgebung, die Augen wurden wohl ab und zu kurze Zeit zugekniffen, aber bald danach schaute das Tier wieder um sich. Höhere Dosen zeigten bei der Katze ähnliche Unruhe und Rastlosigkeit sowie Symptome, wie sie bei der Ratte beschrieben wurden. Bei einigen Tieren wurde der Eindruck gewonnen, daß sehr kleine Dosen anfänglich schlafmachend wirken.

Der junge Schäferhund Lux sprach auf Pervitin sehr günstig an, er wurde nach peroraler Verabreichung von 0,2 mg/kg (das Tier wog 8 kg) auffallend lebhaft und spielig und sprang dauernd an ihm vertrauten Personen hoch. Das gleiche Tier erhielt nach einiger Zeit eine große Dosis Pervitin und zwar 2 mg/kg, d. h. 16 mg insgesamt. Hierbei zeigten sich Erscheinungen einer leichten Intoxikation. Dauernde Leck- und Schluckbewegungen deuteten auf trockene Schleimhäute, vorgesetztes Wasser wurde jedoch nicht genommen. Nach einiger Zeit machte das Tier einen ausgesprochen kranken Eindruck. Es saß ängstlich an seinem Platz, blickte unruhig und scheu umher, die Augen traten etwas hervor, die Pupillen waren erweitert und die Ohren gespitzt. Motorische Unruhe oder Erregungserscheinungen wurden nicht beobachtet. Am nächsten Tage war das Tier wieder normal.

Zentrale Wirkungen.

Aus den vorbeschriebenen Wirkungs- und Vergiftungsbildern ist bereits der zentrale Effekt des Pervitins zu erkennen. Die Stimulation ist im Tierversuch durchaus faßbar, aus dem Gebaren der Tiere sind Wirkungseintritt und Wirkungsdauer leicht festzulegen. Ratte und Maus erwiesen sich als besonders geeignet zur Ermittelung der minimalen, zentral wirksamen Dosis. Als positiv im Sinne eines zentralen Effektes wurde bei der Ratte das unverkennbare und eigenartige Umherblicken gewertet, welches von typischen Bewegungen des Kopfes und der Augen begleitet war. Das

gerade deutlich erkennbare Auftreten dieses Zustandes wurde als unterste zentralwirksame Grenzdosis angesehen und diese bei einer großen Zahl von Tieren ermittelt. Die minimale Dosis lag recht einheitlich bei 0,3 mg/kg Ratte, beträgt also rund $^1/_{60}$ der Letaldosis.

Als noch besseres Testobjekt erwies sich die weiße Maus, war es doch von Bedeutung, eine einfache Methodik zur Ermittelung der minimal erregenden Dosen zu besitzen, um somit die Möglichkeiten zur Beurteilung derartiger stimulierender Substanzen in bezug auf den zentralen Effekt, auch im Vergleich mit bekannten Präparaten und weiteren Derivaten dieser Reihe, zu haben. Zu diesem Zweck wurden die Bewegungskurven weißer Mäuse von etwa 20 g Gewicht im Zitterkäfig registriert.

Diese Käfige waren völlig aus einer weitmaschigen Drahtgaze hergestellt, der Boden bestand aus Holz. Die Tiere konnten sich in dem Käfig völlig frei und ausreichend bewegen, sie hatten Gelegenheit, ihren Klettertrieb ausgiebig an den Wänden des Käfigs zu befriedigen. Der Käfig selbst hing frei an einer gut abgestimmten, empfindlichen Spiralfeder, die Käfigbewegungen wurden im optimalen Winkel durch ein Schnürchen auf einen Schreibhebel übertragen. Auf diese Weise konnten die feinsten Bewegungen der Mäuse, auch die geringsten Kopf- oder Putzbewegungen bei sonst ruhigem Körper, registriert werden.

In ähnlicher Versuchsanordnung wurden weiße Mäuse zur Bestimmung minimaler sedativer und erregender Dosen bekannter Pharmaca von Schlaginweit[8] und später von Druckrey[9] und Perez-Cirera[10] benutzt. Unsere ersten diesbezüglichen Versuche wurden in der Druckreyschen Anordnung durchgeführt, aber es zeigte sich, daß das Anbringen einer Klemme am Ohr oder Fell des Tieres nicht bedeutungslos war. Die Tiere gewöhnten sich oft gar nicht an diesen Reiz und versuchten Faden und Klemme zu entfernen. Meist verdrehten sich durch Kreisbewegungen Faden, bzw. Fell oder Ohren derart, daß die Tiere unruhig wurden. Im Zitterkäfig waren die Tiere völlig frei beweglich und unbehindert, die geringsten Bewegungen (auch die Atmung) konnten genau registriert werden. Methodisch anders gehen Haffner[11] und Forst[12] sowie Rieser[13] zur Registrierung sedativer bzw. erregender Wirkungen an der Maus vor.

Für die vorliegenden Versuche konnten zunächst nur Mäuse benutzt werden, welche eine geringe Spontanaktivität aufwiesen, also ruhige, meist ältere Tiere. Durch minimale Pervitindosen konnten sie zu lebhafter Bewegung veranlaßt werden. In einer großen Zahl derartiger Versuche wurde die mit Sicherheit noch erregende minimale Pervitindosis zu 0,1—0,2 mg/kg Maus ermittelt, sie war also noch geringer als die in den Rattenversuchen festgestellte Minimaldosis und beträgt rund $^1/_{130}$ der Dosis letalis.

In weiteren Versuchen wurde dazu übergegangen, antagonistische Wirkungen mittels dieser Methodik bei mit Narkotica oder Sedativa vorbehandelten Tieren zu erzielen. -- Es wurden in Reihenversuchen die jeweils notwendigen Dosen von Pervitin und verwandten Substanzen nach unten

[8] Schlaginweit: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **131**, 212 (1928). — [9] Druckrey u. Köhler: Ebenda **183**, 106 (1932). — [10] Perez-Cirera: Ebenda **180**. 111 (1938). — [11] Haffner: Klin. Wschr. Nr. 38, S. 1310 (1938). — [12] Forst: Münch. med. Wschr. **1937**, S. 1251. — [13] Rieser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 151 (1938).

hin abgegrenzt, welche eben noch imstande waren, die Motorik der durch die Vorbehandlung praktisch bewegungslos gewordenen Tiere wieder meßbar und eindeutig in Gang zu bringen. Eine genauere quantitative Festlegung der erregenden Wirkungen von Excitantien und Stimulantien erscheint auf

Abb. 1. Maus im Zitterkäfig, hat vor Beginn der Kurve bereits 0,6 g/kg Na Br bekommen. Bei ▲ Injektion von 0,05 mg/kg Pervitin intraperitoneal.

Abb. 2. Katze, Numalnarkose, linke Kurve: Bei ▲ 0,01 mg/kg Pervitin; rechte Kurve: Bei ▲ 0,1 mg/kg Pervitin i. v.

diese Weise möglich. Wir benutzten zur Ruhigstellung der Tiere späterhin meist Bromnatrium. Auf Abb. 1 ist ein derartiger Versuch mit einer minimalen Pervitindosis angeführt. Es sei noch erwähnt, daß mittels dieser Art der Registrierung die schlafhemmende Wirkung des Pervitins in Dauerversuchen über 36 Stunden und länger demonstriert werden kann.

Die Blutdruckwirkung.

Die Blutdruckversuche wurden an Katzen und Kaninchen in der bekannten Anordnung nach Trendelenburg durchgeführt. An normalen, narkotisierten Katzen (Avertin, Numal, Urethan usw.) wirkten bereits 5—10 γ/kg bei intravenöser Injektion blutdrucksteigernd. Der Anstieg betrug bei dieser Dosierung etwa 5—15 mm und blieb einige Minuten bestehen. 0,05 mg/kg ergaben einen starken und anhaltenden pressorischen Effekt (Abb. 2). Mit weiterer Steigerung der Dosis war der Anstieg noch intensiver, vor allem aber von längerer vielstündiger Dauer, oft ging der Blutdruck im Verlaufe eines ganzen Tages nicht wieder zur Norm zurück; Dosissteigerungen schienen in stärkerem Maße die Dauer der Wirkung zu verlängern, als die absolute Höhe des Anstiegs zu steigern.

Abb. 3. Blutdruckversuch, Katze, Avertinnarkose. Bei ↑ jeweils in der oberen Kurve 0,5 mg/kg Pervitin, in der unteren Kurve 40 mg/kg p-Methylaminoäthanolphenoltartrat durch die Sonde in das Duodenum gegeben.

Wiederholte Injektionen kleiner Dosen von Pervitin (0,01—0,03 mg/kg) zeigten fast nie eine gegenseitige Beeinflussung. Bei höherer Dosierung waren tachyphylaktische Erscheinungen zu beobachten, jedoch nur dann, wenn der Blutdruck vor der darauffolgenden Injektion nicht wieder ganz zum Ausgangswert zurückgekehrt war.

Die volle perorale Wirksamkeit des Pervitins konnte auch im Blutdruckversuch erwiesen werden. Insgesamt wurden diese Versuche an 12 Katzen durchgeführt, welche Pervitin und im Vergleich zu diesem eine peroral unsicher wirkende Substanz, das p-Methylaminoäthanolphenol, durch die Schlundsonde oder auch direkt in den Magen oder das Duodenum erhielten. In allen zwölf Fällen trat durch Pervitin in Dosen von 0,05—0,2 mg/kg eine kräftige und anhaltende Blutdrucksteigerung um 20—45 mm ein. Das vergleichsweise geprüfte p-Methylaminoäthanolphenol war selbst bis zu Dosen von 90 mg/kg unsicher wirksam. Die niederen Dosen von 15—40 mg waren nur in drei der zwölf Fälle schwach wirksam, mit 10 mg/kg war nie ein Effekt zu erzielen, während durch intravenöse Kontrollinjektion dieses Präparates bereits bei 0,03 mg/kg Wirkungen zu erzielen waren. Diese Befunde decken sich mit denen von Takaya[14], welcher fand, daß die äquieffektiven Dosen des p-Methylaminoäthanolphenols (Sympatol) bei intravenöser und intrajejunaler Verabreichung sich wie 1 : 250 verhalten (Abb. 3). Zur Beurteilung der Stärke des Blutdruckeffektes wurden vergleichsweise Ephedrin, Veritol und Benzedrine in gleicher Dosierung in-

[14] Takaya: Fol. pharmacol. jap. **23**, 276 (1937).

jiziert. Bei Verwendung kleinster Dosen traten keine tachyphylaktischen Erscheinungen auf, so daß eine vergleichende Beurteilung möglich war. Aus den zahlreichen Versuchen wurde der Eindruck gewonnen, daß der Blutdruckanstieg am höchsten bei Veritol war. Die Dauer der Wirkung war jedoch anhaltender beim Pervitin und Benzedrine, Ephedrin und Veritol wirkten deutlich kürzer.

Die Blutdruckwirkung des Pervitins wurde weiterhin an dezerebrierten Katzen mit und ohne Ausbohrung des Rückenmarkes, sowie im durch Dauerinfusion von Avertin, Histamin oder Morphin erzeugten, dosierten Kollaps geprüft. In allen Fällen war eine intensive Wirkung des Pervitins

Abb. 4. Katze, künstliche Atmung, Avertinkollaps durch Dauerinfusion. 1. Beginn, 3. Ende der Infusion; von 1—3 sind innerhalb 25 Minuten 0,45 g/kg Avertin eingelaufen. Bei 2. 0,5 mg/kg Pervitin i. v.; Avertin läuft weiter ein.

festzustellen. Im Avertinkollaps wurde durch 0,05—0,1 mg/kg Pervitin eine anhaltende Steigerung des Druckes bis zum Ausgangswert und darüber beobachtet (Abb. 4). Um den durch Pervitin im Kollaps anhaltend erhöhten Blutdruck wieder durch weitere und verstärkte Avertininfusion zu senken, waren erstaunlich hohe Avertindosen notwendig, oft gelang die Erzeugung eines zweiten Kollaps überhaupt nicht, da durch die großen infundierten Avertinmengen schließlich Herzschädigungen auftraten (die Tiere wurden künstlich beatmet). Dieses Verhalten war so auffallend, daß es in weiteren Versuchen gelang, durch prophylaktische Pervitininjektion und anschließende Dauerinfusion großer Avertinmengen regelmäßig einen Avertinherzschaden zu erzeugen unter Vermeidung des sonst eintretenden Kollapses. Im Versuch Abb. 5 waren von 1—3 innerhalb von 40 Minuten 1,2 g Avertin eingelaufen, das bedeutet 0,6 g/kg und Stunde. Durch die Untersuchungen von Lendle[15] wurde gezeigt, daß das Entgiftungsvermögen der Katze für Avertin 0,05 g/kg und Stunde beträgt. Ob diese auffallende Wirkung des Pervitins lediglich in dem besonders anhaltenden Kreislaufeffekt begründet ist oder ob durch Pervitin eine Beschleunigung der chemischen Entgiftungsvorgänge noch außerdem von Bedeutung ist,

[15] Lendle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **164**, 188 (1932).

wie sie von Lendle[16] für einige Pharmaca in geringem Maße festgestellt werden konnte, bedarf noch der Klärung.

Im Histaminkollaps, hervorgerufen durch i. v. Injektion von 5 mg/kg Histamin, war Pervitin anhaltend pressorisch wirksam. Die „prophylaktische" Injektion von 0,3 mg/kg Pervitin verhinderte eine Beeinflussung des Blutdruckes bei nachfolgender Injektion von 35 mg/kg Histamin.

In weiteren Versuchen konnte noch festgestellt werden, daß durch Gynergen-Vorbehandlung der Blutdruckeffekt des Pervitins nicht umgekehrt wird. Blockierung der Schaltganglien durch Vorbehandlung mit Spartein (30 mg/kg) beeinflußt die Blutdruckwirkung des Pervitins nicht.

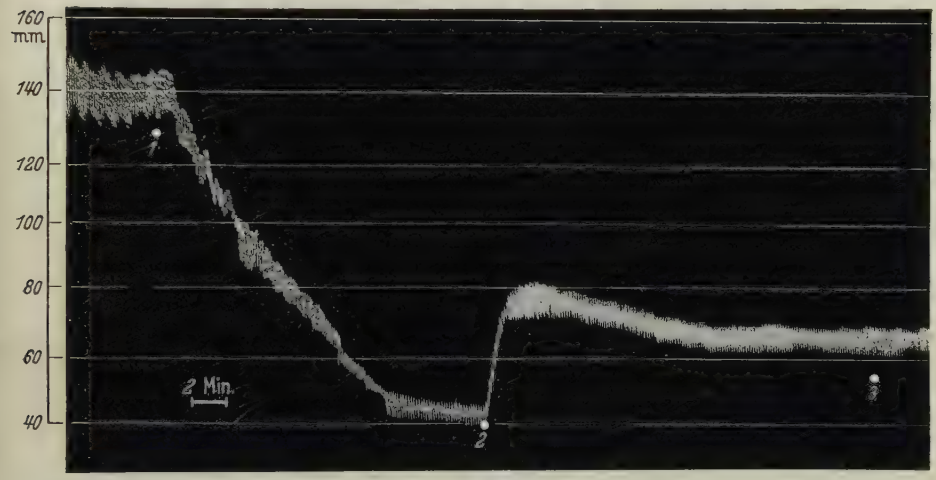


Abb. 5. Katze, künstliche Atmung, Numalnarkose, Kollaps durch Dauerinfusion von Avertin. 1. Beginn der Infusion; 2. 0,1 mg/kg Pervitin i. v. Von 1—3 sind innerhalb 40 Minuten 1,2 g Avertin eingelaufen (= 0,6 g/kg und Stunde).

Nach Atropin findet, wie zu erwarten, keine Beeinträchtigung der Blutdruckwirkung statt, vielmehr besteht der Eindruck, daß nach vorheriger Atropinisierung die Blutdruckwirksamkeit noch etwas verstärkt ist. Durch Cocain konnte keine Sensibilisierung erreicht werden.

Atemwirkung.

An leicht mit Rectidon narkotisierten und dann mit Morphin behandelten Kaninchen wurde die Atemwirkung des Pervitins mittels Registrierung des Minutenvolumens (Gasuhr, Gildemeister-Ventil) untersucht. In diesen Versuchen am Kaninchen war eine sichere Wirkung des Pervitins bis zu Dosen von 0,5 mg/kg nicht nachzuweisen. Diese Dosen erwiesen sich als so hoch, daß die Tiere unruhig wurden und sich losrissen. Aus diesem Grunde

[16] Lendle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **167**, 599 (1932).

wurden die weiteren Versuchen in gleicher Anordnung an Katzen durchgeführt. Die Tiere erhielten Numal- oder Avertinnarkose, dann wurde entweder eine einmalige, schädigende Morphindosis verabreicht oder durch Morphindauerinfusion eine Atemschädigung bis zum Stillstand hervorgerufen. In diesen Versuchen war eine Wirkung des Pervitins auf die Atmung in Dosen von 0,05—0,1 mg/kg nachzuweisen. Auffallend war in all diesen Versuchen der relativ späte Eintritt der Wirkung. Oft vergingen 3—4 Minuten bis zum Beginn einer Beeinflussung (Abb. 6). Es sei das Protokoll eines Versuchs, in welchem durch einmalige subcutane Morphininjektion ein leichter Atmungsschaden gesetzt wurde, angeführt.

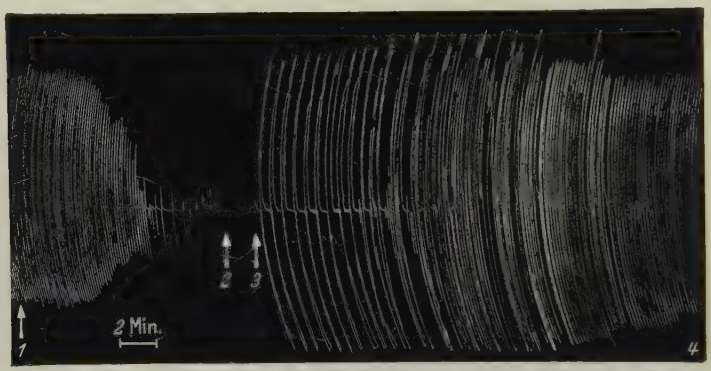


Abb. 6. Atmungsversuch, Katze, Mareysche Kapsel, Numalnarkose. 1. Beginn der Morphindauerinfusion, während des ganzen Versuches von 1—4 sind 20 mg/kg Morphin eingelaufen. Bei 2. 0,05 mg/kg Pervitin i. v.; bei 3. 0,1 mg/kg Pervitin i. v.

Aus Versuchsprotokoll 119: Katze 2,2 kg Numal-Narkose 0,6 mg/kg, Trachealkanüle, Gildemeisterventil, Gasuhr, Registrierung mit Mareyscher Kapsel.

Zeit	Injektion von	Mittleres Minutenvolumen	Frequenz pro Min.
9h 45 bis 10h 04	—	910	37
10h 05	Morphin-HCl i. p. 10 mg/kg	—	—
10 15	—	740	31
10 20	—	600	26
10 21	Pervitin i. v. 0,2 mg/kg	—	—
10 22	—	700	34
10 25	—	770	37
10 30	—	860	40
10 35	—	1170	45
10 40	—	1170	43
10 50	—	1135	42
12 00	—	1070	42

Diurese.

Bereits bei den Rattenversuchen zur Ermittelung der Letaldosis war aufgefallen, daß die Tiere sehr stark urinierten und oft völlig benäßt waren. Aus diesem Grunde wurde der Einfluß auf die Diurese an Mäusen in der

Methodik nach Bonsmann[17] geprüft. Außerdem wurde an Katzen die Harnabscheidung gemessen, indem narkotisierten Tieren in beide Ureteren Kanülen eingebunden wurden und der abtropfende Harn gemessen wurde. In beiden Versuchsanordnungen trat ein deutlicher diuretischer Effekt durch Pervitin auf. Dosen von 0,05 mg/kg führten zu einer Vermehrung der abgeschiedenen Harnmenge bis über 200% des Normalwertes.

Spasmolyse.

Die Wirksamkeit des Präparates wurde sowohl am isolierten Darm als auch am Bronchospasmus geprüft. Am normalen isolierten Darm von Meerschweinchen oder Kaninchen trat eine Tonusabnahme ein, am durch Arecolin oder Bariumchlorid spastisch verengten Darm wirkten noch Verdünnungen von 1 : 100000 lösend.

Zur Ermittelung der bronchospasmolytischen Wirksamkeit des Präparates wurden Versuche am künstlichen Bronchospasmus der Katze in der von Kiese[18] modifizierten Methodik nach Tiefensee[19] durchgeführt. Zur Beeinflussung des durch intravenöse Injektion von 0,2—1,0 mg/kg Pilocarpin erzeugten Bronchospasmus waren relativ hohe Pervitindosen notwendig (3 mg/kg). Bei diesen hohen Dosen traten starke Blutdrucksteigerungen auf, wiederholte Injektionen waren an dem gleichen Tier wegen der langen Wirkungsdauer meist unmöglich. Die bronchospasmolytisch wirksamen Ephedrindosen lagen in der gleichen Größenordnung. Gegenüber letalen Histamindosen (8 mg/kg) am Meerschweinchen war durch Pervitin keine lebensrettende antagonistische Wirkung zu erzielen.

Vergleiche zeigten, daß die spasmolytische Wirksamkeit des Pervitins etwa in der gleichen Größenanordnung wie diejenige des Ephedrins liegt.

Blutzucker.

Die Blutzuckerbestimmungen wurden z. T. in üblicher Weise in der Methodik nach Hagedorn-Kensen, teils in der von Urbach[20] angegebenen Methodik am Stufenphotometer durchgeführt. Es wurde in diesen Versuchen an Kaninchen eine wesentliche Beeinflussung des Blutzuckers nicht gesehen. — Pervitin wurde in Dosen von 0,2—3,0 mg/kg intravenös gegeben. Es war auffallend, daß die gefundenen Werte nach Pervitin stets im obersten Bereich der mit ± 30% angenommenen Fehlerbreite lagen.

Antagonistische Wirkungen gegenüber Chloralhydrat, Veronal, Pernocton und Alkohol.

Die zentrale Wirksamkeit des Pervitins gab Anlaß, die Prüfung auch auf antagonistische Versuche gegenüber den üblichen Narkotica, ähnlich wie sie beim Cardiazol und anderen Analeptica durchgeführt wurden.

[17] Bonsmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **175**, 322 (1934). — [18] Kiese: Ebenda **178**, 342 (1935). — [19] Tiefensee: Ebenda **139**, 129 (1929). — [20] Urbach: Biochem. Z. **265**, 390 (1933).

auszudehnen. Als Versuchstiere dienten Ratten, als Narkotica wurden Chloralhydrat, Veronal und Pernocton sowie Alkohol ausgewählt. Die Prüfung erstreckte sich erstens auf die Feststellung einer eventuellen „Weckwirkung" aus der Vollnarkose. Weiterhin wurde eine Beeinflussung der Narkosedauer sowie der Einfluß vorheriger Pervitininjektionen auf Zustandekommen und Dauer der Narkose geprüft. In Vorversuchen wurde die Seitenlagendosis sowie die Dauer der Wirkung verschiedener Narkotica in Anlehnung an die Angaben von Gros und Haas[21] bestimmt. Als wirksame Seitenlagendosis wurde diejenige gewählt, bei welcher sich alle Tiere mit Sicherheit längere Zeit in Seitenlage befanden. Die Injektion der Narkotica erfolgte intravenös oder intraperitoneal. Pervitin wurde ebenfalls intravenös oder intraperitoneal verabreicht, und zwar nach Eintritt der vollen Seitenlage. Die Pervitindosis wurde variiert. Meist kamen 0,3 oder 1,0 mg/100 g zur Anwendung.

1. Chloralhydrat.

Chloralhydrat wurde in einer Dosis von 0,3 g/kg in 6%iger Lösung langsam in die Schwanzvene der Ratten injiziert. Seitenlage trat sofort ein. Die Dauer der Seitenlage betrug bei den 10 Kontrolltieren als Mittelwert 102 Minuten und bewegte sich zwischen 82 Minuten als unterstem und 118 Minuten als oberstem Wert. 10 weiteren Tieren wurde nun sofort nach Eintritt der Seitenlage, in diesem Falle also anschließend an die Chloralhydratinjektion, je 1,0 mg und 0,3 mg Pervitin injiziert. Dabei fiel auf, daß sofort nach der Pervitininjektion die Augen der Tiere geöffnet wurden, nach einiger Zeit bestand die bereits beschriebene protrusio bulbi. Die Seitenlage blieb zunächst bestehen, auch die Reflexe waren unverändert. Auffallend war die Vertiefung der Atmung, die ruckartig, sofort nach Einlaufen der ersten Pervitinmengen, festzustellen war. Die Dauer der Seitenlage war, wie aus der folgenden Aufstellung ersichtlich, gegenüber den Kontrollversuchen stark verkürzt. Nach dem Abklingen der Chloralhydratwirkung trat bei den Tieren, welche 1,0 mg Pervitin erhalten hatten, der typische Pervitinerregungszustand auf, während bei der niederen Dosierung diese Pervitinwirkung nur in einem Falle zum Durchbruch kam.

2. Veronal-Natrium.

25 mg/100 g Veronal-Natrium subcutan injiziert führten allmählich zur Seitenlage. Die Reflexe blieben zunächst erhalten, waren später jedoch sehr abgeschwächt. Zwei Stunden nach der Veronalinjektion wurden 0,75 mg/100 g Pervitin injiziert. Die Tiere waren alle noch in einem Zustand deutlicher Schmerzempfindung, hoben durch den Einstich der Nadel den Kopf und reagierten teilweise mit Abwehrreflexen, fielen danach aber zunächst in die Seitenlage zurück. Die Augen waren auffallend weit geöffnet und es stellte sich bald eine starke Reflexübererregbarkeit ein. Die Prüfung auf Reflexe und Schmerzempfindung bewirkte nunmehr vorübergehendes Aufrichten aus der Seitenlage, vereinzelt blieb bereits $^1/_2$ Stunde nach der Injektion die Seitenlage aufgehoben. Bei den Kontrolltieren dagegen wurde eine zunehmende Vertiefung der Narkose beobachtet, die Reflexe waren nach 3—4 Stunden nur noch unsicher auszulösen.

[21] Gros u. Haas: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 348 (1936).

3. Pernocton.

Pernocton wurde den Ratten intraperitoneal gespritzt. Die Tiere kamen innerhalb von 3—7 Minuten in Seitenlage. Die Dauer derselben schwankte zwischen 81—126 Minuten. Die Wirkung der Pervitininjektion war ähnlich wie bei den Chloralhydratversuchen. Bald nach der Injektion hatten die Tiere die Augen weit geöffnet, behielten aber die Seitenlage zunächst bei, die Reflexe blieben weiterhin negativ. Bereits nach 29 Minuten erwachte das erste Tier und auch bei den anderen Ratten war eine wesentliche Abkürzung der Narkosezeit festzustellen (siehe Aufstellung).

4. Alkohol.

Bei der Prüfung einer antagonistischen Wirkung des Pervitins gegenüber Alkohol wurde nicht die Seitenlagendosis, sondern in Anlehnung an das Vorgehen von Lendle [22] die „Erholungszeit", der Tiere ermittelt. Darunter wurde die Zeitspanne von der Injektion des Alkohols bis zum zurückgekehrten normalen Verhalten (normales Laufen) verstanden. Pervitin wurde in diesen Versuchen anschließend an die Alkoholinjektion intraperitoneal gespritzt. Kurz nach der Alkoholinjektion kamen die Tiere in Seitenlage und waren vorübergehend reflexlos. Nach Pervitin trat meist beschleunigte Atmung auf, auch waren die Augen zum Teil weit geöffnet. Auffallend war eine etwa 25 Minuten nach der Pervitininjektion beginnende starke Unruhe der Tiere, die wesentlich stärker war, als sie — nur zuweilen — bei den Kontrolltieren beobachtet wurde. Aus der nachfolgenden Aufstellung ist ersichtlich, daß eine beschleunigte Erholung bei den Pervitintieren erzielt werden konnte.

Übersicht.

Narkoticum	Mittlere Dauer der Seitenlage			Bemerkungen
	ohne Pervitin	nach Pervitin		
		0,3 mg/100	1,0 mg/100	
Chloralhydrat 30 mg/100 i. v.	102′ (82—118′)	48′ (29—63′)	41′ (22—55′)	SL. um 60% kürzer
Veronal-N. s. c. 25 mg/100	länger als 12 Std.	—	nach 0,75 mg/100 Pervitin kürzer als 8 Std.	SL. um etwa 40% kürzer
Pernocton 5 mg/100 i. p.	108′ (126—81′)	58′ (29—87′)	—	SL. um 50% kürzer
Alkohol i. p. 0,4 g/100 (30%)	258′ (193—338′)	157′ (108—203′)	—	Erholungszeit 40% kürzer

Ähnliche Versuche wurden an durch Rectidon oder Choralhydrat in Seitenlage gebrachten Kaninchen durchgeführt. Die intravenöse Pervitininjektion hatte dabei einen merklichen Einfluß auf die nicht zu tiefe Narkose. Die Tiere hoben bald nach der Injektion den Kopf und versuchten, sich aufzurichten, was ihnen meist erst nach längerer Zeit gelang. Die Narkosedauer war in jedem Falle, ähnlich wie in den Rattenversuchen, erheblich abgekürzt.

Auf eine zeitliche Variation der Pervitininjektionen wurde verzichtet. Es scheint wahrscheinlich, daß sich durch eine derartige Versuchsanordnung

[22] Lendle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **132**, 214 (1928).

noch günstigere Resultate erzielen lassen. — Die „prophylaktische" Pervitininjektion machte zur Erzielung eines gewissen narkotischen Effektes gegenüber nicht vorbehandelten Tieren wesentlich höhere Narkoticadosen notwendig, bei geringeren Dosen, z. B. von Rectidon oder Urethan, verhinderte die vorherige Pervitininjektion das Auftreten irgendeines narkotischen oder hypnotischen Effektes.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die Bestimmung der letalen Dosen des Pervitins ergibt zwei wesentliche Befunde. Zunächst ist festzustellen, daß die Toxizität und die zentrale Wirksamkeit des Präparates im Vergleich zu verwandten Körpern wie Ephedrin und Veritol ganz wesentlich verstärkt ist. Dies ist die Folge des Wegfalles auch der letzten OH-Gruppe aus dem Molekül. Eine weitere Folge eben dieses Umstandes ist eine zuverlässige perorale Wirksamkeit des Präparates. Die letalen Dosen, z. B. des Ephedrins, sind vergleichsweise etwa 9mal höher bei intraperitonealer und etwa 20mal höher bei peroraler Verabreichung. Ähnlich sind die Verhältnisse beim Veritol[23].

Das allgemeine Wirkungsbild läßt einen starken zentralerregenden Effekt erkennen. Das Auftreten dieser starken zentralen Erscheinungen kann offensichtlich damit begründet werden, daß im Molekül keine Hydroxylgruppe mehr vorhanden ist. Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß sich im Vergiftungsbild sowohl des Ephedrins, als auch des Veritols — allerdings erst bei hohen Dosen — ähnliche zentrale Erscheinungen beobachten lassen, kann diese zentrale Wirksamkeit als ein Charakteristikum der Isopropylaminseitenkette angesehen werden. Substitution durch OH- oder NH_2-Gruppen sowohl im Ring wie in der Seitenkette vermindert diese zentrale Wirksamkeit beträchtlich. — Der zentrale Effekt des Pervitins ist intensiv, und obgleich neben der stimulierenden Wirkung eine analeptische Komponente sicher vorhanden ist, kann es nicht in die Reihe der Hirn- und Hirnrückenmarkskrampfgifte eingereiht werden, Krämpfe werden bei der Intoxikation nur ausnahmsweise beobachtet. Eine gewisse Weckwirkung läßt sich durch Pervitin erzielen. Eine Beeinflussung der Atmung und des Großhirns scheint auch bei tiefer Narkose stattzufinden. Die leichteren Stadien der Narkoticawirkung werden durch Pervitin mit Sicherheit antagonistisch beeinflußt. Die Narkosedauer wird durch Pervitin wesentlich verkürzt. Die antagonistischen Versuche an der Maus und Ratte zeigen, daß die zentralen Angriffspunkte des Pervitins sich auf ganz bestimmte höhere Regionen des Gehirns erstrecken und insbesondere das Großhirn und subcorticale Regionen einer Beeinflussung durch das Präparat unterliegen. Eine genaue Abgrenzung dieser Angriffspunkte steht noch offen und erscheint wünschenswert. —

[23] Biehler: Z. exper. Med. **101**, 62 (1937).

Antagonistische Wirkungen gegenüber Narkotica sind bei dem hydroxylhaltigen Veritol kaum noch ausgeprägt. Lindner[24] sah weder einen Einfluß des Veritols auf die Schlafdauer, noch eine Weckwirkung bei mit Avertin oder Pernocton behandelten Ratten durch Veritol. Die entsprechenden Wirkungen des Ephedrins sind umstritten, wie die Befunde von Kreitmair[25], Killian[26] und anderer Autoren zeigen. Im Pervitin ist ganz offensichtlich der beim Ephedrin mehr als Nebenwirkung zu bewertende zentrale Effekt verstärkt und zur Hauptwirkung geworden.

Die Blutdruckwirkung des Pervitins ist im Tierversuch recht kräftig und läßt sich an der Katze bis zu Dosen von 5—10 γ nachweisen. Der Hauptangriffspunkt für diese Kreislaufwirkung ist in der Peripherie zu suchen. Auch weil sich die blutdruckwirksamen Dosen des Pervitins bei der Injektion in der gleichen Größenordnung, wie sie vom Ephedrin und Veritol bekannt ist, bewegen, dürfte dessen Kreislaufwirkung als wesensverwandt mit derjenigen der beiden genannten Substanzen betrachtet werden. Sie ist völlig unabhängig von dem zentralen Effekt des Präparates. Sie tritt mit Regelmäßigkeit auch bei peroraler Verabreichung auf. — Anders liegen die Verhältnisse bei durch Hydroxyl substituierten Phenylalkylaminen. Zwar bleibt durch die Einführung einer oder mehrerer Hydroxylgruppen die Blutdruckwirksamkeit zumindest erhalten und die parenterale Wirkungsbreite wird erheblich verbessert, in gleichem Maße nimmt jedoch die Wirksamkeit dieser Präparate vom Darm aus ab. Die vorliegenden Untersuchungen ergeben in Übereinstimmung mit Schoen[5], Lindner[24] und anderen Autoren, daß eine perorale Wirksamkeit dieser Oxyphenylalkyl- und -alkanolamine nicht mit Sicherheit zu erwarten ist. Es bedarf die Frage weiterer Klärung, inwieweit im Darm oder in der Leber eventuell entstehende Abbau- oder Kopplungsprodukte für die vielfach und immer wieder im Schrifttum zu findenden günstigen Berichte dieser therapeutisch auch peroral verwendeten Pharmaca verantwortlich zu machen wären oder aber inwieweit das momentane Milieu im Magen-Darmkanal und die Funktionstüchtigkeit der Leber sowie Gegenregulationen von Bedeutung sein können für die jeweiligen peroralen Wirkungsbedingungen. Das hydroxylfreie Pervitinmolekül scheint völlig beständig sowohl gegenüber einem schnellen Abbau in der Leber und im Organismus, als auch gegenüber den im Magen-Darmkanal wirkenden Agentien. Aus dieser Tatsache heraus läßt sich wohl auch die auffallend lange Wirkungsdauer des Pervitins, selbst bei kleinster Dosierung, erklären.

Pervitin wirkt nicht rein sympathomimetisch, da neben der Sympathicuswirkung noch eine direkte muskuläre Wirkung vorhanden zu sein scheint. Dafür spricht auch, daß nach Ergotamin ein Blutdruckanstieg erfolgt, und Cocainvorbehandlung keine Sensibilisierung und Verstärkung

[24] Lindner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 429 (1937). — [25] Kreitmair: Ebenda **187**, 607 (1937). — [26] Killian: Z. exper. Med. **100**, 432 (1937).

des Blutdruckeffektes herbeiführt. Vielmehr entfernt sich Pervitin in dieser Hinsicht noch weiter vom Adrenalin als das Ephedrin.

Die spasmolytischen Wirkungen des Pervitins liegen, sowohl in bezug auf den isolierten Darm als auch für die spastisch verengte Bronchialmuskulatur, in der Dosis-Größenordnung des Ephedrins. Die Anwesenheit der alkoholischen Hydroxylgruppe scheint also in dieser Hinsicht von keiner Bedeutung. Die starke diuretische Wirkung des Pervitins ist langanhaltend. Zipf[27] fand eine Verstärkung der Diurese durch Veritol. Diese Befunde wurden kürzlich von Schneider und Springorum[28] bestätigt. Ephedrin und Sympatol besitzen nach diesen Autoren diuresehemmende Eigenschaften.

Eine weitere, in dieser Arbeit nicht berücksichtigte, bedeutungsvolle Eigenschaft des Pervitins ist seine von Seifert[29] erstmalig festgestellte Wirkung auf den Stoffwechsel. Eine leichte Grundumsatzerhöhung war nach den vorliegenden Erfahrungen zu erwarten. Überraschend ist jedoch der Befund von Seifert, daß der respiratorische Quotient (Versuche am Menschen) durch Pervitin bis über 1,0 erhöht wird, d. h. eine auffallend starke Kohlensäureabatmung unter Pervitin stattfindet. Dieser Befund erscheint höchst bedeutungsvoll zur Klärung zahlreicher akuter Probleme und dürfte zu neuen Fragestellungen anregen.

Im Tierexperiment scheint die Hauptwirkung des Pervitins seine Blutdruckwirkung zu sein, denn es wirken bereits Dosen blutdrucksteigernd (5—10 γ), welche einen zentralen Effekt nicht erkennen lassen. Letzterer kann im Tierversuch erst bei 10fach höherer Dosierung, d. h. bei 0,1 mg/kg, wahrgenommen werden. Auf den Menschen von 60 kg in Annäherung übertragen, würde dies einer Dosis von 6 mg entsprechen. Bei Einnahme von 6 mg per os sind am Menschen die zentralen Wirkungen des Pervitins jedoch schon recht kräftig, man befindet sich schon weit oberhalb der minimal wirksamen Dosis. Die Blutdruckwirkung beginnt beim Menschen dagegen bei einer Dosis von 6 mg gerade erst aufzutreten, oft sind noch höhere Dosen notwendig. Also ist der zentrale Effekt beim Menschen als Hauptwirkung zu werten, erst dann folgt die blutdrucksteigernde Wirkung. Gegenüber diesen beiden Einflüssen auf Zentralnervensystem und Kreislauf treten die anderen pharmakologischen Wirkungen zurück.

Bedeutungsvoll erscheint weiter noch eine anhaltende Beeinflussung des vegetativen Systems im allgemeinen, wobei noch nicht abzusehen ist, inwieweit eine Stoffwechselwirkung und Erhöhung des R. Q. von grundlegender Bedeutung für das Zustandekommen der vielfältigen Wirkungen des Pervitins sein dürften.

[27] Zipf: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 679 (1938). — [28] Schneider u. Springorum: Klin. Wschr. **42**, S. 1460. — [29] Seifert: im Druck.

Zusammenfassung.

Pervitin, 1-Phenyl-2-methylamino-propan, stellt eine Substanz dar, welcher im Tierversuch gleichzeitig starke zentralerregende und peripher blutdrucksteigernde Wirkungen zukommen.

Der zentrale Effekt äußert sich bei niederen, nicht toxischen Dosen in einer auffallenden Verstärkung der Motorik von Ratten und Mäusen sowie in einem eigentümlichen und charakteristischen Gebaren der Tiere. Es besteht ein wirksamer Antagonismus gegenüber schlafmachenden und narkotischen Dosen bekannter Sedativa und Hypnotica. Schlafdauer und Narkosezeit werden wesentlich abgekürzt.

Bereits bei geringster Dosierung wird der Blutdruck gesteigert. Die Stärke des Blutdruckeffektes unterscheidet sich nicht wesentlich von derjenigen des chemisch verwandten Ephedrins oder Veritols, die Dauer der Wirkung des Pervitins ist jedoch länger. Es gelingt, den im experimentellen Kollaps gesunkenen Blutdruck langanhaltend zu steigern. Regelmäßig läßt sich ein Blutdruckeffekt durch Pervitin auch bei peroraler Verabreichung erzielen. Die Blutdruckwirkung ist unabhängig von dem zentralen Effekt des Präparates. Das Präparat ist kein echtes Sympathomimeticum; nach Ergotamin steigt der Blutdruck weiterhin an, durch Cocain findet keine wesentliche Sensibilisierung statt. Pervitin entfernt sich in dieser Hinsicht noch weiter vom Adrenalin als das Ephedrin.

Die spasmolytischen Wirkungen liegen sowohl in bezug auf den isolierten Darm, als auch für die spastisch verengte Bronchialmuskulatur dosenmäßig in der Größenordnung des Ephedrins.

Das Präparat ist diuretisch wirksam.

Durch vergleichende Versuche mit dem chemisch nahe verwandten Ephedrin sowie dem Veritol konnte gezeigt werden, daß der Wegfall der Hydroxylgruppe aus dem Molekül bei etwa gleichbleibendem Blutdruckeffekt und ähnlichen spasmolytischen Eigenschaften wesentliche Wirkungsabänderungen mit sich bringt; die absolute Wirksamkeit wird erhöht, die Wirkungsdauer verlängert, die peroralen Resorptions- und Wirkungsbedingungen werden optimal. Der bereits im Ephedrin angedeutete zentralerregende Effekt wird mächtig verstärkt und beherrscht das Wirkungsbild des Pervitins.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bonn.
(Direktor: Prof. Dr. W. Schulemann.)

Beiträge zur Pathologie der Infektion des Huhnes mit Plasmodium gallinaceum (Brumpt).

Von
Dr. phil. **L. Jacobi.**

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. November 1938.)

Zu den in der experimentellen Malariaforschung gebräuchlichen Vogelplasmodien hat sich seit kurzem das Plasmodium gallinaceum (Pl. gall.) der Hühner gesellt, das Brumpt im Jahre 1935[1] genau beschrieben hat. Besonderes Interesse hat das Pl. gall. dadurch gewonnen, daß es fast regelmäßig und gewöhnlich sehr reichlich neben den Erythrocyten auch andere Körperzellen befällt, eine Entdeckung, die James und Tate[2] im Jahre 1937 gemacht haben. Die Natur dieser Zellen war zunächst strittig. Insbesondere durch Untersuchungen von James und Tate wurde erwiesen, daß es sich um endotheliale Zellelemente handelt. Nicht eindeutig steht dagegen fest, daß diese endothelialen Zellelemente dem reticulo-endothelialen System stets angehören. Dem Vorschlag von James und Tate folgend, werden diese außerhalb der Erythrocyten befindlichen Formen des Pl. gall. als exo-erythrocytäre Formen (EE-Formen) bezeichnet werden.

Obwohl in den letzten Jahren eine relativ große Zahl von Arbeiten über die Pathologie der Infektion des Huhnes mit Pl. gall. und insbesondere über das Problem der exo-erythrocytären Infektion erschienen ist, sind doch noch viele Fragen ungelöst. Eine ausführliche Literaturzusammenstellung findet sich in den Arbeiten von Giovannola (1938)[3] und anderen. Auf diese wird verwiesen, um hier nicht nochmals alles das zusammenzufassen, was andernorts schon zu finden ist.

Zur Infektion wurde der von Brumpt aus Ceylon mitgebrachte Stamm von Pl. gall., den auch James und Tate, Kikuth[4], Giovannola und andere zu ihren Versuchen verwandten, benutzt. Wir danken Herrn Prof. Brumpt, Paris, aufrichtig dafür, daß er die Güte hatte, auch uns diesen Stamm zu überlassen. Fräulein L. Kratz sind wir für ihre überaus zuverlässige und aufopfernde Mithilfe bei der Durchführung der Versuche zu großem Dank verpflichtet.

---

[1] Brumpt, E.: C. r. Acad. Sci. **200**, 783—785. — [2] James, S. P., u. P. Tate: Parasitology **30**, 128—138. — [3] Giovannola: Riv. Parassitol., Vol. 2, S. 129—142. — [4] Kikuth: Zbl. Bakter. usw., I. Abt., **140**, 227—230.

Material und Methoden.

Als Versuchstiere dienten uns 500—1000 g schwere, 2—6 Monate alte Hähnchen (weiße Leghorn). Die Untersuchungen wurden fast ausnahmslos im Frühjahr und im Sommer gemacht. Die Tiere wurden sämtlich intramuskulär mit Malaria infiziert. Entsprechende Untersuchungen mit intravenös geimpften Tieren werden später veröffentlicht werden. Zur Überimpfung wurde stets parasitenreiches Blut genommen (+ oder stärker, Tabelle 1). Die Gerinnung des Blutes wurde durch Zusatz von 3,8%iger Natriumcitratlösung (etwa ein Zehntel der Blutmenge) verhindert. Durch 0,9%ige Kochsalzlösung wurde das Blut in den meisten Fällen weiter verdünnt.

Die Blutausstriche, die fast ausnahmslos morgens zwischen 9 und 12 Uhr angefertigt wurden, wurden bei 450—500facher Vergrößerung (Optik: Zeiss) durchgesehen. Die Stärke der Blutinfektion ist folgendermaßen bezeichnet:

Tabelle 1.

$+^1$ bis $+^6$	gleich	1— 6	Parasiten	in 100	Gesichtsfeldern
+	„	7— 10	„	„ 100	„
++	„	11—100	„	„ 100	„
+++ = +	„	1— 2	„	„ 1	Gesichtsfeld*
++	„	2— 10	„	„ 1	„
+++	„	10— 20	„	„ 1	„
++++	„	mehr als 20	„	„ 1	„

* Durchschnittswerte bei Durchsicht von 10—30 Gesichtsfeldern.

Folgende Fehlerquelle ließ sich bei dieser Art des Auszählens nicht vermeiden: Je nach ihrer Zahl im Blute liegen die Erythrocyten natürlich im Ausstrich verschieden dicht. Während der Krankheit ändert sich die Erythrocytenzahl, so daß im Gesichtsfeld des Ausstriches wechselnde Zahlen von Erythrocyten vorhanden sind. Da stets gleiche Zahlen von Gesichtsfeldern durchgesehen wurden, schwanken entsprechend die Parasitenzahlen. Diese Zählungen liefern also nur Anhaltspunkte, die aber doch — wenn auch nur in gewissen Grenzen — Vergleichsmöglichkeiten liefern.

Infektionsverlauf nach intramuskulärer Impfung (vgl. dazu Abb. 1).

Am 5.—9. Tage nach der Impfung erscheinen die ersten Parasiten im Blute und vermehren sich dann schnell (Abb. 2a—e). Die Geschwindigkeit der Parasitenvermehrung ist nach unseren Beobachtungen von der Tageszeit unabhängig. Zwischen dem 9. und 17. Tag ist der größte Teil der Tiere deutlich infiziert (mehr als ++, Kurve 1b), dann klingt die Infektion meist ab. Bei einigen Tieren bleibt sie auch länger bestehen. Das Abklingen der Infektion geht ebenso schnell vor sich wie der Anstieg

(Abb. 2a—d). Über den Verlauf der latenten Infektion und die Recidivfragen wird in einer späteren Arbeit gesondert berichtet werden.

Geschlechtliche Formen sind im positiven Ausstrich von Anfang an, wenn auch in geringer Zahl, vorhanden. Auch unter den ersten Parasiten, die nach intramuskulärer Impfung im Blute erscheinen, haben wir Gamonten gefunden.

Um einen Überblick zu bekommen, wann die bei Pl. gall. von vielen Autoren festgestellten EE-Formen auftreten, wurde einmal bei der Durchsicht der Blutausstriche auf das Erscheinen von EE-Formen geachtet, da diese ja, wie auch James und Tate (1938) mitteilen, bisweilen in „weißen

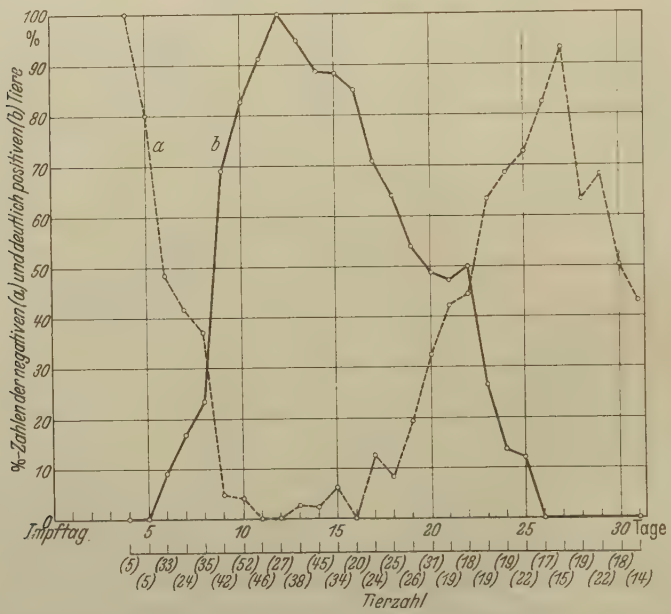


Abb. 1. Ergebnisse der Blutuntersuchungen von etwa 120 intramuskulär geimpften Tieren. Auf der Abszisse sind die Tage nach der Impfung, sowie (in Klammern) die Zahlen der an den betreffenden Tagen untersuchten Tiere angegeben. Auf der Ordinate sind die Prozentzahlen eingetragen. Die Kurve *a* gibt an, bei wieviel Prozent der an den betreffenden Tagen untersuchten Tiere keine Parasiten im Blutausstrich zu finden waren, die Kurve *b*, bei wieviel Prozent der Blutausstrich deutlich positiv (++ oder stärker) war. Die Untersuchungen erstrecken sich über die Monate Mai, Juni und Juli. (Unter Mitbenutzung einer von Neele kontrollierten Serie von 20 Tieren zusammengestellt.)

Blutzellen“ des peripheren Blutes zu finden sind. Außerdem wurden von insgesamt 51 intramuskulär infizierten Hähnchen in Abständen von je 1—2 Tagen je 1—3 Tiere seziert. 45 dieser Tiere entstammen einer Serie von Hähnchen, die am 20. IV. 38 in ganz gleicher Weise intramuskulär infiziert wurde, und die in der eben beschriebenen Weise bis zum 27. V. 38 untersucht wurde. Die übrigen sechs Tiere wurden in der Zeit, in der die EE-Formen vorkommen (s. unten und Tabelle 2) seziert.

Von Gehirn, Leber, Lunge, Milz, Niere, zwischendurch auch Knochenmark dieser Hähnchen wurden Abstriche gemacht und untersucht. Ebenso

Tabelle 2.

Tag nach der Impfung	Getötete Tiere			Gestorbene Tiere		
	Zahl	EE-Formen		Zahl	EE-Formen	
		positiv	negativ		positiv	negativ
5	2	0	2	1	0	1
6						
7	3	0	3			
8						
9	3	0	3			
10				1	0	1
11				1	0	1
12	3	0	3	4	0	4
13	1	0	1	2	0	2
14	2	0	2	1	0	1
15						
16	2	0	2	3	0	3
17	1	0	1			
18						
19	2	0	2	1	0	1
20				1	0	1
21	2	1	1			
22	2	1	1			
23	2	1	1			
24	4	2	2	1	1	0
25	1	1	0	4	4	0
26	3	3	0			
27	1	0	1	3	3	0
28	2	2	0	1	1	0
29	3	3	0	1	1	0
30	3	3	0	1	1	0
31	2	1	1			
32						
33	2	1	1			
34	1	0	1	1	1	0
35	2	0	2			
36						
37	2	1	1			
	51	20	31	27	12	15

Übersicht über die auf EE-Formen untersuchten Tiere. Infektion: Intramuskulär. Die Untersuchungen wurden im Mai, Juni und Juli gemacht.

bearbeitet wurden die während der Krankheit gestorbenen Tiere. Nachdem sich herausgestellt hatte, daß — wie auch in der Literatur[5] angegeben — im Gehirnabstrich die EE-Formen weitaus am regelmäßigsten zu finden sind, begnügten wir uns mit der Untersuchung von Gehirnabstrichen; denn, wenn wir in anderen Organen EE-Formen fanden, fanden wir sie auch im Gehirn; nicht aber umgekehrt.

Die Untersuchung der Organabstriche ergab die in der Tabelle 2 eingetragenen Resultate. Danach erscheinen die EE-Formen frühestens

[5] Brumpt, E.: C. R. Soc. Biol. **125**, 810—813 (1937).

am 21. Tage nach der Überimpfung. Zwischen dem 25. und 30. Tage nach der Infektion wurden in 22 von 23 untersuchten Tieren — also in mehr als 95 % der Fälle — EE-Formen gefunden, dann traten sie wieder unregelmäßiger auf, wurden jedoch noch am 37. Tage nach der Impfung bei einem Tier gefunden.

Späteres Auftreten von EE-Formen wurde nicht systematisch verfolgt. Am 41., 66., 77., 91. und 148. Tage nach der Infektion haben wir je ein Tier (drei der Tiere alte Hühner, zwei Hähnchen, die vor der Impfung chronisch mit Trypanblau behandelt waren) auf EE-Stadien untersucht, ohne etwas zu finden*.

Im Blute wurden nur bei drei Tieren EE-Formen beobachtet, und zwar zwischen dem 26. und 35. Tage (Abb. 2c und d).

Über den Prozentsatz der Mortalität können wir wenig Sicheres sagen, da es uns nicht möglich war, die Tiere einzeln und damit unter individuell genau kontrollierbaren Bedingungen zu halten. Allein und im trockenen Stall gehaltene kräftige Tiere sterben selten an der Infektion. Sind mehrere infizierte Tiere in einem Stall zusammen, so gesunden die kräftigeren eher als die schwächeren. Die geheilten Tiere hacken nun auf den noch kranken herum und vertreiben sie von den trockenen und warmen Plätzen. Holen sich diese kranken Tiere nun noch Erkältungskrankheiten, so gehen sie meist ein. So erklären wir uns auch, daß im Herbst die Mortalitätsziffer höher war als im Frühjahr und im Sommer. Im Frühjahr und im Sommer war sie unter, im Herbst dagegen über 50 %.

Im allgemeinen scheint die Infektion mit EE-Formen für das Tier ebenso gefährlich zu sein wie der akute erythrocytäre Anfall. (Vergleiche dazu auch Tabelle 2: am 10. bis 16. Tag nach der Impfung, also zur Zeit des akuten erythrocytären Anfalls, sowie am 25. bis 30. Tag, also während der starken exo-erythrocytären Infektion, starben relativ viele unserer Tiere). Bemerkenswert ist noch, daß bei schwächlichen und unter ungünstigen Bedingungen gehaltenen Tieren die akute Blutinfektion vielfach so lange anhält, daß die Infektion mit EE-Formen hinzukommt (Abb. 2e). In diesem Falle sterben die Tiere fast immer.

Beiträge zur Pathologie (vgl. dazu die Abb. 2a—e).

Die Tiere werden während des Befalls der Erythrocyten anämisch und schwach, sie fressen wenig und ihre Kämme sind blaß. In den stets gleichmäßig angefertigten Ausstrichen liegen die Blutzellen weit auseinander. — Verschwinden nun die Parasiten wieder, so werden die Tiere lebhaft, ihre Kämme wieder rot, während in den Ausstrichen die Erythrocyten immer noch weit auseinanderliegen. Auch finden sich beim Huhn (im Gegensatz zu den Verhältnissen bei dem Kanarienvogel) nur selten jugendliche Erythrocyten im Blute. Es schien uns wichtig, dies

* Ein am 6. X. 1938 intramuskulär geimpftes Tier ließ 61 Tage nach der Impfung EE-Formen im Gehirnabstrich erkennen.

genauer zu prüfen, da wir hofften, auf diese Weise etwas über die Art, in der der Parasit den Wirt schädigt und über die Abwehrreaktionen des Huhnes zu erfahren. Wir impften deshalb fünf Hähnchen intramuskulär, zählten vor und während der Krankheit die Erythrocyten und — soweit möglich — die befallenen Erythrocyten, bestimmten den Sahliwert des Blutes, wogen und beobachteten die Tiere. Blutausstriche wurden von den Tieren täglich gemacht.

Zur Untersuchungstechnik ist noch folgendes zu bemerken: Die Untersuchungen fanden im Juni bis Juli statt; sämtliche fünf Tiere wurden gleichzeitig und in ganz gleicher Weise intramuskulär geimpft sowie im gleichen Stall unter gleichen Bedingungen gehalten. Die Erythrocytenzählung und die Bestimmung des Sahliwertes geschah nach den in der Medizin üblichen Methoden (Schridde und Naegeli: Hämatologische Technik, 1910, S. 103—108). Das Blut wurde für die Erythrocytenzählungen meist aus dem Kamm, bisweilen auch, da das Blut aus dem Kamm sehr schnell gerann, aus der Flügelvene entnommen. Da die Erythrocytenzählung stets zur Kontrolle wiederholt wurde, fand sich genügend Gelegenheit, die Resultate der Erythrocytenzählungen des Kamm- und Flügelvenenblutes zu vergleichen. Unterschiede konnten dabei nicht festgestellt werden.

Zur Bestimmung des Sahliwertes wurde das Blut stets aus der Flügelvene entnommen. Die Erythrocytenkerne, die in der Salzsäure erhalten blieben, waren bei der Bestimmung etwas störend; durch sie erhielt die Lösung einen schwachen Grauton. Das verschlimmerte sich noch während des akuten Anfalls, da dann das Parasitenpigment hinzukam. Ist der Sahliwert extrem niedrig, so ist die Salzsäureblutlösung braun-grau, und mit der Vergleichslösung kaum noch zu vergleichen.

Da der akute Malariaanfall bei verschiedenen Tieren — zumal wenn, wie bereits oben erwähnt, mehrere Hähnchen in einem Stall gehalten werden — verschieden verläuft, sollen hier die Kurven von allen fünf Tieren wiedergegeben werden. Nur so ist es möglich, die im folgenden beschriebenen Zusammenhänge zwischen Erythrocytenzahl, Hämoglobingehalt, Gewicht und Zahl der befallenen Erythrocyten deutlich zu erkennen. Würden die Einzelwerte der fünf Kurven zu Durchschnittswerten zusammengezogen werden, so würde sich ein zwar einfacheres, aber für den Nachuntersucher trügerisches Schema ergeben.

Die Untersuchungsergebnisse waren folgende:

1. Das gesunde Hähnchen besitzt etwa 3 Millionen Erythrocyten. Die Zahlen schwanken zwischen 2,6 und 3,7 Millionen. Das stimmt mit den Angaben Salomons (1920)[6] und Klienebergers (1927)[7] ganz gut überein. Während des akuten Anfalls kann die Erythrocytenzahl bis auf 950000

[6] Salomon: Ein Beitrag zur Morphologie des normalen Hühnerblutes. Inaugural. Diss., Gießen 1920. — [7] Klieneberger: Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere, Leipzig 1927.

absinken (Abb. 2e). Erst lange nach dem Anfall kommt das Hähnchen wieder in den Besitz der normalen Erythrocytenzahl. Verläuft der akute Anfall nur leicht (Abb. 2a, weniger typisch auch 2b), so beginnt die Erythrocytenregeneration anscheinend erst, nachdem das Tier den Anfall überwunden hat. Ist der akute Anfall sehr schwer und hält er lange an, so bildet das Tier während des Anfalls neue Erythrocyten, wie dies aus den Abb. 2c—e deutlich hervorgeht.

2. Den Verlust von zwei Drittel seiner Erythrocyten hielt das Tier (Abb. 2e) lange aus, obwohl von dem verbleibenden Drittel fast ein Drittel befallen, also wohl funktionsuntüchtig war. Erst als der Befall mit EE-Formen hinzukam, starb es. Da das Tier an dem Tage, bevor es starb, sich sichtlich erholte (Blutausstriche weniger stark positiv, Tier lebhafter, Kamm röter als die Tage vorher), ist anzunehmen, daß es an der Blutinfektion allein nicht zugrunde gegangen wäre (vgl. auch Abb. 2d).

3. Die absolute Zahl der Blutparasiten erreicht ihren höchsten Wert in den ersten Tagen der akuten Blutinfektion, da dann das Tier noch viele Erythrocyten hat.

4. Die Kurve des Sahliwertes sinkt etwas schneller ab als die der Erythrocytenzahl. Es ist ja auch klar, daß der Hämoglobingehalt schneller abnimmt als die Erythrocytenzahl, da die befallenen Erythrocyten weniger Hämoglobin haben als die gesunden. Außerdem sieht man aus den Kurven, daß mit der Neubildung der Erythrocyten in gleichem Maße Hämoglobin gebildet wird, daß also die neugebildeten Erythrocyten bereits den vollen Hämoglobingehalt besitzen.

5. Kurz vor dem Auftreten der EE-Formen scheint sich die Blutregeneration zu verlangsamen (Abb. 2b—d), anschließend an das Auftreten von EE-Formen wird meist ein kurzes Blutparasitenrecidiv erkennbar, das die Erythrocytenneubildung aber kaum zu beeinflussen scheint.

6. Während des Anfalls verlieren die Tiere, obwohl sie, wenn sie schwer krank sind, fast nichts fressen, kaum an Gewicht.

7. Die Kammfarbe der Hähnchen ist von dem Hämoglobingehalt ihres Blutes weniger abhängig als von ihrem Allgemeinbefinden. Mit dem Verschwinden der Parasiten, bevor der normale Hämoglobingehalt wieder erreicht ist, wird der Kamm bereits rot.

8. Die Erkrankung der Hähnchen an EE-Formen war den Tieren äußerlich nicht anzusehen. Von Lähmungserscheinungen („Symptoms of general Paralysis“ James und Tate, 1938) konnte nichts festgestellt werden.

Zusammenfassung.

Nach intramuskulärer Impfung mit parasitenreichem Blut (+ oder stärker) ist das Blut des neuen Wirtes zwischen dem 6. und 22. Tage nach der Impfung meist erkennbar, zwischen dem 9. und 17. Tage deutlich infiziert. Stets ist ein geringer Teil der erythrocytären Parasiten ge-

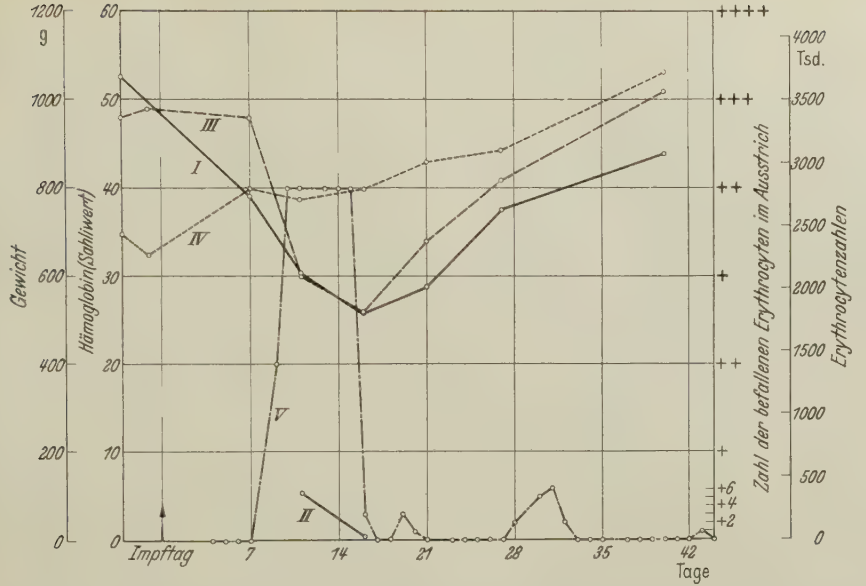


Abb. 2a. Erythrocytenzahl (Kurve I), Zahl der befallenen Erythrocyten (II), Hämoglobingehalt (III), Gewicht (IV) und Zahl der befallenen Erythrocyten im Ausstrich (V) eines Tieres, das während des akuten Malariaanfalls nach intramuskulärer Impfung untersucht wurde. Auf der Abszisse sind die Tage nach der Impfung, auf der Ordinate die Gewichte in g, der Hämoglobingehalt (Sahliwerte), die Zahl der befallenen Erythrocyten in einer bestimmten Fläche des Blutausstriches (hinsichtlich der Bezeichnung s. Tabelle 1), sowie die Erythrocytenzahlen in cmm Blut in Tausend angegeben. Vgl. Text S. 487.

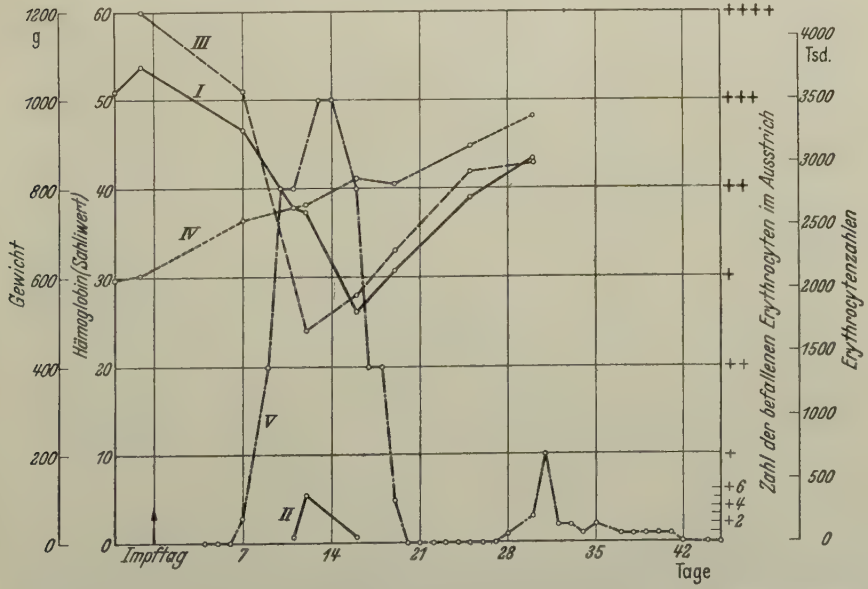


Abb. 2b. Erythrocytenzahl (Kurve I), Zahl der befallenen Erythrocyten (II), Hämoglobingehalt (III), Gewicht (IV) und Zahl der befallenen Erythrocyten im Ausstrich (V) eines Tieres, das während des akuten Malariaanfalls nach intramuskulärer Impfung untersucht wurde. Vgl. Abb. 2a sowie Text Seite 487.

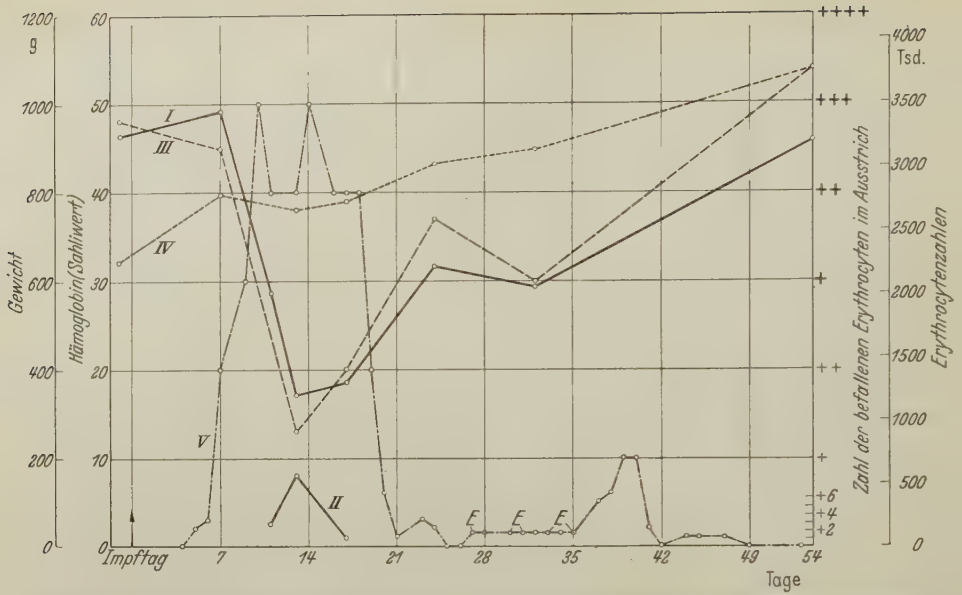


Abb. 2c. Erythrocytenzahl (Kurve I), Zahl der befallenen Erythrocyten (II), Hämoglobingehalt (III), Gewicht (IV) und Zahl der befallenen Erythrocyten im Ausstrich (V) eines Tieres, das während des akuten Malariaanfalls nach intramuskulärer Impfung untersucht wurde. *E* über der Kurve V bedeutet, daß im Blutausstrich des Tieres an den betreffenden Tagen exo-erythrocytäre Formen gefunden wurden. Vgl. Abb. 2a sowie Text S. 487.

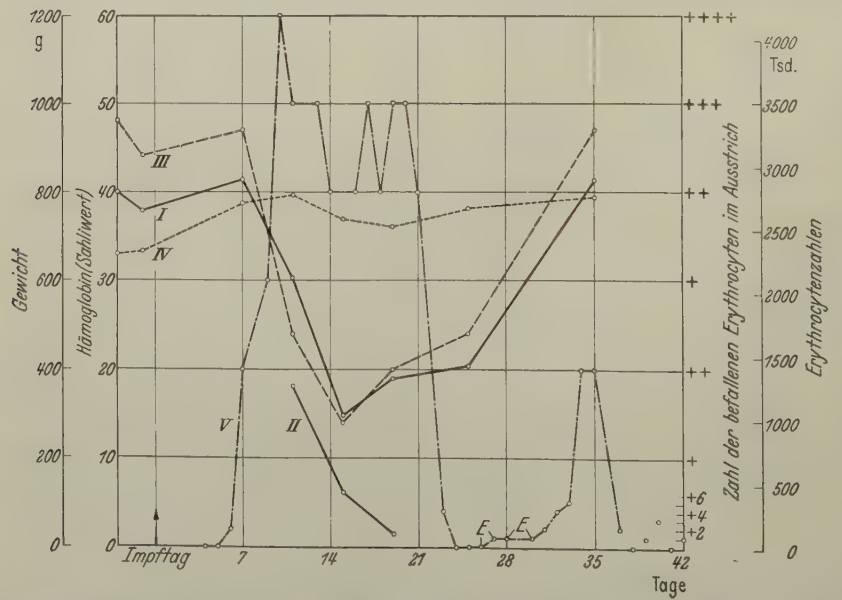


Abb. 2d. Erythrocytenzahl (Kurve I), Zahl der befallenen Erythrocyten (II), Hämoglobingehalt (III), Gewicht (IV) und Zahl der befallenen Erythrocyten im Ausstrich (V) eines Tieres, das während des akuten Malariaanfalls nach intramuskulärer Impfung untersucht wurde. *E* über der Kurve V bedeutet, daß im Blutausstrich des Tieres an den betreffenden Tagen exo-erythrocytäre Formen gefunden wurden. Vgl. Abb. 2a sowie Text S. 487.

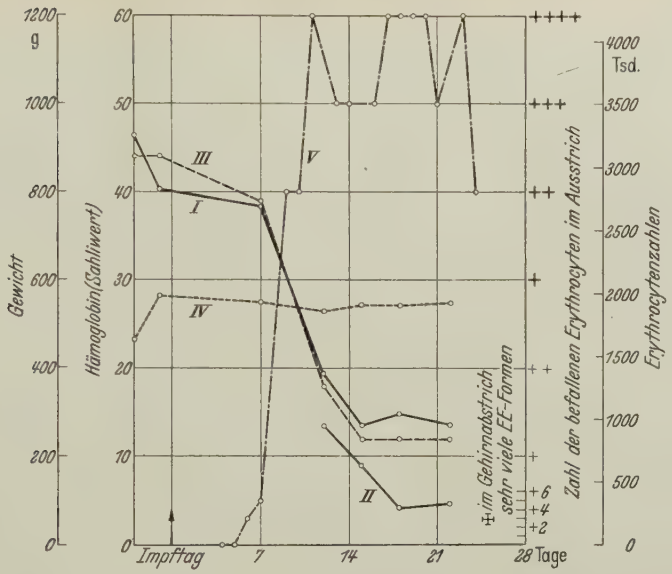


Abb. 2e. Erythrocytenzahl (Kurve I), Zahl der befallenen Erythrocyten (II), Hämoglobingehalt (III), Gewicht (IV) und Zahl der befallenen Erythrocyten im Ausstrich (V) eines Tieres, das während des akuten Malariaanfalls nach intramuskulärer Impfung untersucht wurde. Ŧ über der Abszisse am 25. Tag bedeutet, daß das Tier an dem Tag gestorben ist. Vgl. Abb. 2a sowie Text S. 487.

schlechtlich differenziert. EE-Formen sind regelmäßig zwischen dem 25. und 30. Tage nach der Infektion zu finden, ihr Auftreten ist, wie auch von anderen Autoren beobachtet, von dem Stande der erythrocytären Infektion unabhängig. Anschließend an das Auftreten der EE-Formen ist jedoch meist ein Blutparasitenrezidiv erkennbar.

Die akute erythrocytäre und exo-erythrocytäre Infektion schädigen das Tier so sehr, daß es unter ungünstigen äußeren Bedingungen zugrunde geht, insbesondere, wenn noch die eine oder andere Krankheit hinzukommt. Ist das Tier gleichzeitig erythrocytär und exo-erythrocytär stark infiziert, so stirbt es fast regelmäßig.

Die Erythrocytenzahl kann während des akuten Anfalls auf ein Drittel ihrer ursprünglichen Höhe absinken. Erythrocyten- und Hämoglobinregeneration gehen langsam aber gleichzeitig vor sich. Das Befinden der Tiere ist von der Erythrocytenzahl und dem Hämoglobingehalt ihres Blutes wenig abhängig. Die Gewichtsabnahme der Tiere ist während des akuten Anfalls gering.

Die Arbeit wurde zum Teil unter Verwendung von Mitteln ausgeführt, die vom Roche-Fonds der Deutschen Forschungsgemeinschaft liebenswürdigerweise zur Verfügung gestellt wurden.

Aus dem Laboratorium der Chirurgischen Klinik der Medizinischen Akademie Düsseldorf.

Über die Blutdruckwirkung von arteigenen Hypophysenhinterlappenextrakten bei Hühnern.

Von

E. Werle und E. Hoff.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. November 1938.)

Extrakte aus Hypophysenhinterlappen (H.H.L.) aller untersuchten Tierklassen verursachen bei Säugetieren nach intravenöser Injektion eine lang anhaltende Blutdrucksteigerung, welche durch das Vasopressin verursacht wird. Paton und Watson[1] beobachteten als erste, daß bei Vögeln der H.H.L.-Extrakt nicht eine Blutdrucksteigerung, sondern eine Blutdrucksenkung bewirkt, die nicht durch das Vasopressin, sondern durch das Oxytocin, die uteruswirksame Komponente, hervorgerufen sein soll[2, 3, 4].

Bei der Untersuchung der Wirkung verschiedener Kreislaufstoffe am Huhn fand der eine von uns (Werle[5]), daß das Kallikrein der Säugetiere den Blutdruck des Huhnes nicht beeinflußt, während andere, sowohl blutdrucksenkende als auch -steigernde Kreislaufstoffe schon in geringsten Mengen qualitativ gleichartig wirkten wie beim Säugetier. Aus Hühnerpankreas und -kot konnte ein Stoff angereichert werden, der sich chemisch wie Kallikrein verhielt, den Blutdruck der Säugetiere (Hund, Katze) aber nicht zu beeinflussen vermochte, während er den des Huhnes stark herabsetzte. Im Hinblick auf die beim Kallikrein beobachteten Verhältnisse legten wir uns die Frage vor, ob die beim Vogel beobachtete Unwirksamkeit des am Säugetier so hoch aktiven Vasopressins auch darauf beruht, daß der Vogel nur auf arteigenes Vasopressin anspricht. Es war daher von Interesse zunächst einmal festzustellen, wie arteigene Hypophysenextrakte bei Vögeln auf den Blutdruck wirken.

Bei der Durchsicht der Literatur stellte sich heraus, daß bisher fast ausschließlich Extrakte aus Säugetierhypophysen bei Vögeln und solche von Vogelhypophysen bei Säugetieren injiziert wurden. Lediglich L. T. Hogben[6] untersuchte die Wirkung von Entenhypophysengesamtextrakt an Enten und beobachtete eine Blutdrucksenkung. Ob aber dabei die Wirkung einer blutdrucksenkenden von der

---

[1] Paton u. Watson: J. Physiol. (Brit.) **44**, 413 (1912). — [2] Gaddum, H.: Ebenda **65**, 434 (1928). — [3] Dietel: Klin. Wschr. **1934**, S. 554. — [4] Morash u. Gibbs: J. Pharmacol (Am.) **37**, 475 (1929). — [5] Werle, E.: Klin. Wschr. **5**, 164 (1936); E. Werle u. J. Hürther: Biochem. Z. **285**, 175 (1936). — [6] Hogben, L. T.: Quart. J. of Physiol. **14**, 238 (1924).

einer -steigernden Komponente überlagert wurde, läßt sich nicht ohne weiteres entscheiden. Herring[7] beobachtete in Versuchen an Katzen bei Injektion von Extrakten, die sowohl aus der gesamten Hypophyse von Vögeln als auch von Säugetieren und Schildkröten gewonnen worden waren, einen Blutdruckanstieg. Paton und Watson[1], die bei ihren Versuchen Pituitrin des Handels bei Enten injizierten, beobachteten oft vor der Blutdrucksenkung eine geringe Steigerung. Manchmal resultierte nach wiederholten Injektionen des Präparates nur noch eine geringe Steigerung, ohne Senkung. Eine Erklärung für diese Beobachtung wird von den Forschern nicht abgegeben. Morash und Gibbs[4] fanden in einer Reihe von 67 Versuchen an Hühnern, daß 13% der Hühner auf Hypophysengesamtextrakt mit einer reinen Steigerung, 50% mit einer reinen Senkung des Blutdrucks reagierten und daß bei 37% einer anfänglichen Senkung eine Steigerung folgte. Hogben und Schlapp[8] erzielten mit handelsüblichen Präparaten bei Säugetieren vor der definitiven Blutdrucksteigerung öfter eine geringe -senkung. Diese war nicht durch die Substanz hervorgerufen, die bei Vögeln die Blutdrucksenkung verursacht; denn einige Präparate senkten wohl den Blutdruck des Huhnes, nicht aber den der Säugetiere. Nach wiederholten Injektionen ihrer Präparate bei Vögeln beobachteten Hogben und Schlapp statt einer Senkung eine Steigerung des Blutdruckes. Die Autoren halten es deshalb für nicht ausgeschlossen, daß in ihren Präparaten eine bei Vögeln blutdrucksteigernde Komponente enthalten ist.

Eine Reihe von Autoren untersuchte die Wirkung der reinen handelsüblichen Komponenten des H.H.L. In Versuchen von Holtz[9] ergaben 0,1 int. Einh. Pitocin* am Huhn dieselbe Blutdrucksenkung wie 2,0 int. Einh. Pitressin. Daraus folgert Holtz, daß die Senkung auf Pitocin allein zurückzuführen sei und die Wirkung bei der Pitressininjektion auf Verunreinigung des Pitressins durch Pitocin beruht. Bei 0,1 int. Einh. Pitressin folgt der anfänglichen kleinen Senkung eine geringe Steigerung. Holtz schließt daraus, daß der Gehalt an Oxytocin nicht groß genug ist, um die steigernde Wirkung des Pitressins, die auch bei Vögeln vorhanden sei, völlig zu übertönen. Hiergegen sprechen Versuche von Hogben und Schlapp, bei denen ähnlich geringe Steigerungen auch bei Injektion von Hypophysengesamtextrakten beobachtet wurden. Da in diesen Präparaten noch die gesamte Oxytocinmenge enthalten ist, müßte durch sie die Wirkung des Vasopressins sicher unterdrückt worden sein. Interessant ist die Beobachtung Gaddums, wonach Blutdrucksteigerungen, die durch große Mengen Oxytocin beim Säugetier hervorgerufen werden, länger andauern als gleich starke Blutdrucksteigerungen, die durch Vasopressin erzielt werden. Beim Huhn beobachtete er bei großen Gaben von Vasopressin (1,2 int. Einh.) manchmal eine Blutdrucksenkung. Die Wirkung der Vasopressinpräparate auf den Blutdruck der Vögel führt auch Gaddum auf eine Verunreinigung der Präparate mit Oxytocin zurück. Nach Morash und Gibbs[4] ergibt Vasopressin unmittelbar nach Oxytocin injiziert eine Blutdrucksteigerung. Die Autoren sprechen von einer Desensibilisierungszeit, innerhalb welcher eine Oxytocingabe ohne Wirkung bleibt, so daß die steigernde Wirkung des Vasopressins zum Durchbruch kommen kann**. Weiter fanden die Autoren, daß Oxytocinpräparate den Blutdruck des Huhnes stärker senken als Vasopressinpräparate. Vasopressin ergab öfter eine Blutdrucksteigerung, weshalb auch Morash und Gibbs annehmen, daß das Vasopressin an Hühnern in derselben Weise wirkt wie am Säuge-

[7] Herring: Quart. J. of exper. Physiol. **1908**, 262. — [8] Hogben u. Schlapp: Quart. J. of Physiol. **14**, 229 (1924). — [9] Holtz: J. Physiol. (Brit.) **76**, 149 (1928).

* Zur Nomenklatur: Vasopressin = Pitressin = Tonephin; Oxytocin = Pitocin = Orasthin.

** Es sei hier bemerkt, daß in eigenen Versuchen dieser Effekt nicht eintrat: Vasopressininjektionen, die während des Wiederanstiegs des nach einer Orasthingabe gesunkenen Blutdrucks gemacht wurden, verursachten wiederum eine Blutdrucksenkung.

tier, daß aber der Effekt durch die Wirkung einer senkenden Substanz übertönt wird. Die Autoren fassen ihre Beobachtungen folgendermaßen zusammen: Die blutdrucksenkende Wirkung des Pituitrins bei Hühnern ist auf eine Substanz zurückzuführen, die sich in der Oxytocinfraktion in großen Mengen, in der Vasopressinfraktion in kleinen Mengen findet.

Dietel[3] ist der Ansicht, daß Tonephin auf den Blutdruck des Huhnes ohne Einfluß ist. Wie aus seiner Arbeit zu entnehmen ist, senken 0,6 int. Einh. Orasthin den Blutdruck des Huhnes um 9 mm, während 1,0 int. Einh. Tonephin noch völlig unwirksam sind. Erst größere Mengen (2,5 int. Einh. Tonephin) ergeben eine Senkung von 5 mm, die Dietel ebenso wie die oben erwähnten Autoren auf eine Verunreinigung des Tonephins durch Oxytocin zurückführt.

Überblickt man die Ergebnisse der referierten Arbeiten, so stellt man fest: Von allen Autoren wird einheitlich angenommen, daß die Substanz, die bei Hühnern die Blutdrucksenkung hervorruft, nicht dieselbe ist wie die, welche bei Säugetieren die Steigerung verursacht[2, 3, 4, 8, 9]. Vasopressin soll nach der Ansicht einiger Autoren[2, 3] nur den Blutdruck der Säugetiere beeinflussen und nicht den der Vögel. Andere Forscher[4, 9] nehmen dagegen an, daß Vasopressin auch bei Vögeln den Blutdruck steigert: die Wirkung soll aber nicht zum Durchbruch kommen, weil sie durch eine blutdrucksenkende Komponente übertönt wird.

Zur Lösung der Frage, ob Gesamtextrakte aus H.H.L. von Hühnern eine blutdrucksteigernde und eine -senkende Komponente enthalten, erschien es uns notwendig, Präparate aus Hühnerhypophysen zu fraktionieren.

1. Gewinnung und Fraktionierung von Extrakten aus H.H.L. von Hühnern.

Zur Gewinnung der Hühnerhypophysen führt man je einen Scherenschlag von dem durchschnittenen Wirbelkanal aus zu den Augen hin und entfernt die dadurch beweglich gewordene untere Knochenplatte des Kopfes. Die Hypophyse liegt dann als kleines stark stecknadelkopfgroßes Gebilde an der Basis des Gehirns. Die bei Hühnern ausgesprochen scharfe Abgrenzung von Vorder-, Mittel- und Hinterlappen gestattet eine gute Trennung des Hinterlappens von der restlichen Hypophyse.

Zu unseren Versuchen verwendeten wir Präparate, die durch Extraktion frischer Hypophysen mit physiologischer NaCl-Lösung gewonnen wurden und solche, die nach dem an Rinder-H.H.L. ausgebildeten Verfahren von Kamm und Mitarbeitern[10] fraktioniert worden waren. Die mit Aceton und Äther getrockneten Hypophysen wurden mit dem 100fachen Gewicht an 0,25%iger Essigsäure versetzt, 30 Minuten bei 95° belassen und dann filtriert. Der so gewonnene Essigsäureextrakt, welcher sämtliche Wirkstoffe des H.H.L. enthält, wurde eingeengt und mit Ammonsulfat gesättigt. Der dabei entstehende Niederschlag, der alle Wirksubstanzen enthalten soll, wurde durch Filtration isoliert (Filtrat = Präp. VI) und dann in 98%iger Essigsäure gelöst (Rückstand = Präp. V). Diese Lösung wurde mit dem $2^1/_2$fachen Volumen Äther und dem 5fachen an Petroläther gefällt, das Filtrat verdunstet und der Rückstand in Wasser gelöst (Präp. IV). Der Niederschlag wurde getrocknet, wiederum in 98%iger Essigsäure gelöst und gleich darauf mit Äther wieder gefällt. Der Niederschlag wurde nochmals wie vorstehend be-

[10] Kamm, Aldrich, Rowe u. Bugbee: J. amer. Chem. Soc. **50**, 573 (1928).

schrieben, behandelt. Das ätherische Filtrat wurde mit soviel Wasser versetzt als sich eben löste und dem davon doppelten Volumen an Petroläther. Hierbei sollte ein Niederschlag entstehen, der nur durch geringe Mengen blutdruckwirksamer Substanz verunreinigt ist und in der Hauptsache uteruswirksame Substanz enthalten soll. Dieser Niederschlag trat nicht auf. Deshalb wurde die Flüssigkeit verdunstet und der Rückstand in Wasser aufgenommen (Präp. III).

Die Reinigung der blutdrucksteigernden Substanz geht von dem nach der zweiten Ätherfällung erhaltenen Niederschlag aus, der noch 50% des gesamten Oxytocins enthält. Zur Entfernung unwirksamen Eiweißes wird der Niederschlag in 98%iger Essigsäure gelöst und mit Aceton gefällt. Das Filtrat wird dann wiederholt mit steigenden Mengen von Äther gefällt. Die einzelnen Niederschläge enthalten dann zunehmende Mengen blutdrucksteigernde Substanz. Diese Behandlung mit Aceton und Äther mußte wegen der Kleinheit der uns noch verbliebenen Mengen in einem Schritt vorgenommen werden. Der erhaltene Niederschlag wurde getrocknet und in Wasser gelöst (Präp. I). Nach den Angaben von Kamm und Mitarbeitern enthält das Filtrat noch durch Petroläther fällbare uterusaktive Substanz. Da bei dieser Behandlung in unserem Filtrat keine Fällung auftrat, wurde die Lösung verdunstet und der Rückstand in Wasser aufgenommen (Präp. II).

2. Pharmakologische Auswertung der Präparate.

Die Versuche an Hühnern und Enten wurden in Urethan-ätherNarkose vorgenommen. 1 Stunde vor Versuchsbeginn wurden subcutan je kg Körpergewicht 2 ccm einer 25%igen Urethanlösung injiziert. Nach 1 Stunde wurde die Narkose durch Äther vertieft. Im Laufe der Versuche stellte es sich als zweckmäßig heraus, erhöhten Wert auf eine gute Urethanbasisnarkose* zu legen, weil eine gleichmäßige Narkose mit Äther allein nur sehr schwer zu erzielen war. Hühner reagieren schon auf kleine Änderungen in der Ätherdosierung mit großen Blutdruckschwankungen. Zur Registrierung des Blutdrucks wird das Quecksilbermanometer am einfachsten an die Beinarterie angeschlossen. Etwas tiefer als die Arterie liegt die Vene, in welche die zu untersuchenden Lösungen injiziert wurden. Bei Enten liegt die Beinarterie tiefer als beim Huhn. Hier ist es zweckmäßiger, die Carotis zu verwenden, die paarig von den oberflächlichen Muskeln bedeckt, genau in der Mittellinie des Halses verläuft.

Die Wirkung der Präparate aus Hühnerhypophysen wurde mit derjenigen standardisierter Handelspräparate (Tonephin, Orasthin) aus Rinderhypophysen verglichen.

Dabei ergab sich folgendes: a) Auf die intravenöse Injektion von 0,15 ccm des Gesamtextraktes (frische Hühner-H. H. L. mit physiol. Salzlösung extrahiert) erfolgte eine steil abfallende Senkung von 14 mm, die nach einer Latenzzeit von etwa 5 Sekunden einsetzte und etwa 2 Minuten anhielt (Abb. 1A). b) 0,01 ccm Präp. I (Vasopressinfraktion) ergaben eine steil abfallende Senkung von 22 mm (s. Abb. 1A). Der Anstieg erfolgte zunächst rasch, wurde dann aber nach 1 Minute flacher. Der Anfangswert des Blutdruckes war nach 10 Minuten noch nicht wieder

* Eine gute Urethanbasisnarkose ist übrigens leicht zu erreichen, weil Hühner größere Mengen von Urethan ohne Schaden vertragen.

erreicht. Die Grenze einer sichtbaren Wirkung lag bei 0,01 ccm. c) 0,06 ccm von Präp. II, das die uteruserregende Komponente enthalten sollte, ergaben eine Senkung von 4 mm. Die Form der Blutdruckkurve gleicht derjenigen die durch Präp. I verursacht wurde (s. Abb. 1A). d) Präp. III, das ebenfalls Oxytocin enthalten soll, war bis 0,1 ccm unwirksam. 0,3 ccm ergaben eine eben sichtbare Senkung. Die Restfraktionen IV—VI bewirkten erst in hohen Dosen eine Blutdrucksenkung, weil sie, wie erwartet, nur geringste Mengen der Wirkstoffe enthielten.

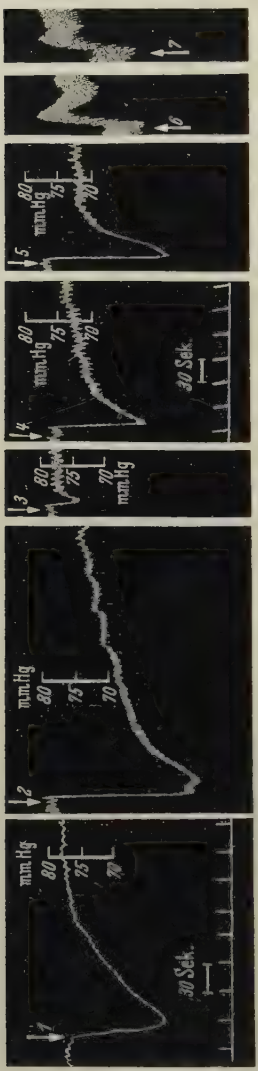


Abb. 1A. Huhn, 1,8 kg, Urethanäthernarkose. Femoralisblutdruckkurve, geschrieben mit dem Hg-Manometer.
Bei 1 i. v. Injektion von 0,15 ccm Gesamtextrakt aus H. H. L. vom Huhn,
„ 2 „ „ „ 0,01 „ Präparat I,
„ 3 „ „ „ 0,06 „ „ II,
„ 4 „ „ „ 0,05 „ Orasthin,
„ 5 „ „ „ 0,2 „ Tonephin.

Abb. 1B. Hund, 18 kg. Morphiumäthernarkose, Carotisblutdruckkurve geschrieben mit Hg-Manometer.
Bei 6 i. v. Injektion von 0,05 ccm Tonephin,
„ 7 „ „ „ 0,075 „ Präparat I.

Einen Anhalt über die Stärke der oben beschriebenen Effekte erhielten wir durch einen Vergleich mit denjenigen, die durch Oxytocin und Tonephin bei demselben Tier hervorgerufen wurden. e) 0,05 ccm Orasthin enthaltend 0,15 int. Einh. Oxytocin ergaben eine Senkung von 18 mm, die ebenfalls steil abfällt (s. Abb. 1). Der Anstieg erfolgte hier aber entschieden schneller als bei den Präparaten aus Hühner-H. H. L. Eine eben sichtbare Wirkung wurde mit 0,015 ccm erzielt. Die Wirksamkeit der Präparate nahm, bezogen auf die Volumeneinheit, in nachstehender Reihenfolge ab: Präp. I, Orasthin, Tonephin, Präp. II, Präp. III. Die Grenze der Sichtbarkeit der Blutdruckwirkung lag beim Präp. I bei Injektion von 0,001 ccm und bei Orasthin bei 0,0075 ccm. Unter der Voraussetzung, daß Oxytocin allein die Blutdrucksenkung veranlaßt, sind dann in 1 ccm Präp. I 22,5 int. Einh. Oxytocin enthalten*.

* Hieraus läßt sich errechnen, daß der Gehalt der Hühnerhypophysen an Wirksubstanz pro mg Trockensubstanz etwa dem der Rinderhypophysen entspricht; denn wir erhielten aus 72 mg Trockenhypophyse etwa 6 ccm Präp. I, enthaltend 135 Einh. Vasopressin, das sind pro 0,5 mg Trocken-H. H. L. 0,94 int. Einh.

Der Gehalt des Tonephins an Orasthin errechnet sich wie folgt: 0,02 ccm Tonephin (= 0,1 int. Einh. Vasopressin) wirken ebenso stark wie 0,01 ccm Orasthin (0,03 int. Einh. Oxytocin). Dies ergibt auf 100 int. Einh. Tonephin eine Uteruswirksamkeit, die der von 30 int. Einh. Orasthin entspricht.

Bei den Versuchen an diesem Huhn zeigte sich also, daß sämtliche Präparate, sowohl die Gesamtextrakte als auch die einzelnen Fraktionen, blutdrucksenkend wirken. Die Vermutung, daß die Fraktion, die bei Säugern eine Blutdrucksteigerung hervorruft, bei Verwendung arteigener Hypophysen den Blutdruck der Vögel steigern würde, bestätigte sich also nicht. Daraus konnte man schließen, daß auch die arteigenen Vasopressin- und Oxytocinfraktionen beim Huhn blutdrucksenkend wirken, oder daß die Trennung der beiden Wirkstoffe nur unvollständig gelungen war, wie denn auch bei der Verwendung von Rinderhypophysen es bisher nicht gelungen ist, die einzelnen Wirkstoffe quantitativ zu trennen. Um diese Möglichkeiten beurteilen zu können, wurde zunächst der Gehalt der Präp. I—VI an uteruswirksamer Substanz am isolierten Meerschweinchenuterus festgestellt:

Dabei ergab sich an einem ersten Uterus: a) 0,5 ccm einer Lösung 1 : 1000 Präp. I verursachen eine Kontraktionshöhe von 10 mm. b) 0,4 ccm Orasthin 1 : 100 ergeben ebenfalls eine Kontraktionshöhe von 10 mm. c) Bei 0,3 ccm Tonephin 1 : 100 beträgt die Höhe der Kontraktion 11 mm. d) 0,5 ccm Präp. III 1 : 100 bewirken eine Kontraktion von 10 mm Höhe. Präp. II ist unwirksam.

Nach diesen Ergebnissen entsprechen in ihrer Wirkung auf den Uterus: 0,4 ccm Orasthin = 0,5 ccm Präp. I = 3 ccm Tonephin = 5 ccm Präp. III. Da in 1 ccm Orasthin 3 int. Einh. enthalten sind, ergeben sich für Präp. I 2,4, für Tonephin 0,4, für Präp. III 0,24 int. Einh. Oxytocin in 1 ccm. Bei einem zweiten Uterus wurde ein ganz ähnliches Wirksamkeitsverhältnis beobachtet.

Nach diesen Versuchen wirkt also pro Volumeneinheit das Orasthin etwa 8mal stärker als das Tonephin. Daraus errechnet sich, daß 13,3 int. Einh. Tonephin durch 1 int. Einh. Orasthin verunreinigt sind, d. h. auf 100 Tonephineinheiten treffen 7,5 Orasthineinheiten*. Dies Ergebnis stimmt nicht mit dem am Huhn gefundenen überein, wonach 100 int. Einh. Tonephin 30 int. Einh. Orasthin enthalten würden, unter der Voraussetzung, daß Vasopressin keinen Einfluß auf den Blutdruck des Huhnes hat. Bei den aus Hühnerhypophysen hergestellten Präparaten besteht ein ähnliches Mißverhältnis zwischen den Ergebnissen der Auswertungen am Huhn und am Uterus. Beim Huhn ergeben sich in 1 ccm Präp. I 22,5 int. Einh. Oxytocin, während nach der Uteruswirksamkeit 2,4 int. Einh. errechnet wurden.

Berechnet man also sowohl bei den handelsüblichen Tonephinpräparaten aus Rinderhypophysen als auch bei dem Präp. I aus Vogelhypophysen

* Nach den gleichzeitigen Messungen (Februar 1936) der pharmakologischen Abteilung des Werkes Höchst der I. G. Farbenindustrie treffen auf 100 int. Einh. des uns übersandten Präparats Tonephin 10 Einh. Orasthin. Die beiden Messungen stimmen also nahe überein.

den Gehalt an Orasthin, so ergibt sich, daß er am Blutdruck gemessen um ein Vielfaches stärker ist als am Uterus ermittelt. Weitere Auswertungen der Präparate am Blutdruck des Huhnes und am Uterus bestätigten diese Ergebnisse. Die Durchschnittswerte für die verschiedenen Präparate sind aus nachstehender Tabelle ersichtlich*.

	Gehalt an Oxytocin pro ccm	
	am Meerschweinchen-uterus gemessen	am Blutdruck des Huhnes gemessen
Präparat I	2,4 int. Einh.	22,0
Präparat II	0,0 „ „	0,8
Tonephin	0,4 „ „	1,5

Keines der aus Hühnerhypophysen hergestellten Präparate zeigte also am Huhn eine Blutdrucksteigerung. Durch die Parallelversuche am Uterus ergab sich aber die Tatsache, daß alle Präparate, die nach der Fraktionierung nur noch kleine Mengen von Oxytocin enthielten, am Blutdruck wirksamer waren als es der am Uterus errechneten Menge des Oxytocins entsprochen hätte.

Aus den in der Tabelle wiedergegebenen Auswertungen geht hervor, daß das Oxytocin allein nicht für die blutdrucksenkende Wirkung der Präparate aus Hühner- und aus Rinderhypophysen verantwortlich gemacht werden kann.

Es erhebt sich so die Frage, ob Vasopressin beim Huhn eine blutdrucksenkende Wirkung hat oder ob eine dritte histaminartig wirkende Substanz[11, 12] in den Präparaten enthalten ist.

Die Anwesenheit von Histamin selbst konnte auf folgende Weise ausgeschlossen werden: Die Hypophysenpräparate wurden mit n/1 NaOH 2 Stunden lang auf 37° erwärmt und dann mit HCl neutralisiert. Hierdurch werden die Wirkstoffe des Hinterlappens vernichtet, wogegen Histamin erhalten bleibt. Nach dieser Behandlung besaßen die Präparate keine Blutdruckwirkung mehr. Die blutdrucksenkende Substanz verhielt sich also bei dieser Behandlung wie Vasopressin und Oxytocin.

Der Vermutung, daß Tonephin eine senkende Wirkung auf den Blutdruck der Vögel ausübt, steht, wie erwähnt, die anderer Autoren[4, 9] gegenüber, daß Tonephin bei Vögeln ebenso wie bei Säugetieren eine Steigerung des Blutdrucks bewirkt, die aber durch die senkende Komponente des Hypophysenhinterlappens verdeckt wird. Die Vermutung beruht auf der Beobachtung dieser Autoren, daß Vasopressininjektionen anschließend an die Senkung öfters eine Blutdrucksteigerung hervorrufen.

* Es sei hier nochmals darauf hingewiesen, daß die Berechnungen unter der Annahme gemacht wurden, daß die uteruswirksame Substanz dieselbe ist wie die, die den Blutdruck des Huhnes beeinflußt.

[11] Kahlson, G.: Scand. Arch. f. Physiol. **77**, 271 (1937). — [12] Wollheim: Schweiz. Med. Wschr. **49**, 1231; Act. Med. Skand. Vol. XVL. fasc. I—II (1937).

Wir versuchten einen solchen Effekt auf folgende Weise zu erzielen: Durch wiederholte Injektionen von Orasthin kann man die Wirkung dieses Hormons so weit herabsetzen, daß sie am Blutdruck praktisch nicht mehr in Erscheinung tritt. Eine Injektion von Tonephin im Zustand dieser Immunität müßte die eigentliche Blutdruckwirkung des Präparats hervortreten lassen. Wir immunisierten ein Huhn durch wiederholte Gaben von 0,1 ccm Orasthin. Zu Beginn der Injektionen ergaben 0,2 ccm Tonephin eine Senkung von 14 mm, die nach etwa 2 Minuten von einer Steigerung von knapp 5 mm gefolgt wurde. 0,1 ccm Orasthin verursachten eine Senkung von 16 mm. Nach 9 Injektionen in Abständen von 5 Minuten verringert sich die Senkung auf 9 mm und nach weiteren Injektionen von 0,3, 0,2 und 0,5 ccm Orasthin auf nur 6 mm. Nunmehr löste eine Injektion von 0,2 ccm Tonephin eine Senkung von 4 mm aus, der nur eine Steigerung

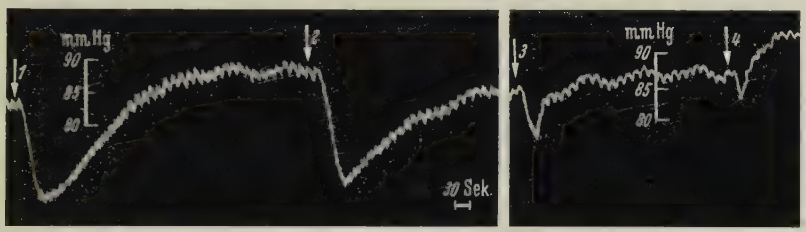


Abb. 2. Huhn, 2,0 kg, Urethanäthernarkose, Femoralisblutdruckkurve, geschrieben mit dem Hg-Manometer.
Bei 1 i. v. Injektion von 0,2 ccm Tonephin,
„ 2 „ „ „ 0,01 „ Orasthin.
Zwischen den Injektionen 2 und 3 wurden zunächst 9mal 0,1 ccm Orasthin, dann je 0,2, 0,3 und 0,5 ccm Orasthin i. v. gegeben.
Bei 3 i. v. Injektion von 0,1 ccm Orasthin,
„ 4 „ „ „ 0,2 „ Tonephin.

um 4 mm über den Anfangswert folgte (s. Abb. 2). Bei einem anderen Huhn wurde durch eine Tonephininjektion nach einer Immunisierung durch 5 Orasthingaben eine Senkung erzielt, der eine Steigerung folgte, die größer war als bei der Kontrollinjektion zu Beginn der Versuche. Eine nochmalige Injektion einer gleich großen Menge von Tonephin gab dann aber keine Steigerung. Nach diesen Versuchen schien dem Vasopressin (= Tonephin aus Rinderhypophysen) eine steigernde Wirkung am Blutdruck des Huhnes zuzukommen, die allerdings weit hinter der am Säugetier beobachteten zurücksteht. Bei weiteren Versuchen an anderen Hühnern konnte der Effekt nur selten und in geringem Umfang beobachtet werden. Es wurde auch innerhalb der oben erwähnten Desensibilisierungszeit[4] durch Vasopressin nur eine nochmalige Senkung erzielt.

Aus der Gesamtheit der Versuche geht nicht hervor, daß das Vasopressin ein bei den Hühnern blutdrucksteigerndes Hormon darstellt. Es besteht vielmehr die Möglichkeit, daß es am Huhn eine gewisse blutdrucksenkende Wirkung entfaltet. Die Schwierigkeit, dies direkt zu be-

weisen, besteht darin, daß es nicht gelingt, die einzelnen Wirkungsfaktoren quantitativ voneinander zu trennen*.

Als letztes Mittel die Frage zu klären, versuchten wir die elektive Inaktivierung des Oxytocins nach dem Verfahren von Gulland und Randall[13]. Das Verfahren besteht darin, daß man in Boratpufferlösung von p_H 8,4 Natriumsulfit auf die Hypophysenpräparate einwirken läßt, wobei innerhalb von 5 Min. das Oxytocin zerstört wird. Ob allerdings bei dieser Behandlung nicht auch das Vasopressin inaktiviert wird, war aus den Angaben der genannten Autoren nicht zu ersehen. Unsere Versuche ergaben nun, daß gleichzeitig Oxytocin und Vasopressin inaktiviert werden. Die Anwendung des Verfahrens konnte also keinen Beitrag zur Klärung der aufgeworfenen Frage liefern.

Zusammenfassung.

Nach dem Verfahren von Kamm und Mitarbeitern werden Hypophysenhinterlappenextrakte von Hühnern fraktioniert. Der Gehalt der einzelnen Fraktionen an Vasopressin und Oxytocin wird mit Hilfe von standardisierten Vasopressin- (Tonephin-) bzw. Oxytocin- (Orasthin-) Präparaten aus Rinderhypophysen ermittelt.

Geht man von der in der Literatur vertretenen Annahme aus, daß die blutdrucksenkende Wirkung der Hypophysenhinterlappenpräparate am Huhn durch die uterusaktive Komponente verursacht wird, so ergibt die Messung des Gehalts der einzelnen Fraktionen aus Hühner- und Rinderhypophysen, je nach dem verwendeten Testobjekt ganz verschiedene Werte: Der am Uterus des Meerschweinchens ermittelte Oxytocingehalt der Präparate ist stets weit niedriger als der am Blutdruck des Huhnes gemessene. Aus diesem Befund war zu schließen, daß neben dem Oxytocin eine weitere Substanz des H.H.L. den Blutdruck des Huhnes zu senken vermag. Es könnte sich dabei um die pharmakologisch dem Histamin sehr nahestehende Substanz, Depressan, von Wollheim[12] handeln. Die für die zusätzliche blutdrucksenkende Wirkung verantwortliche Substanz verhält sich aber nach unseren Versuchen chemisch nicht wie Histamin, sondern wie Oxytocin und Vasopressin. Für die in der Literatur vertretene Ansicht, daß Vasopressin auch beim Huhn eine blutdrucksteigernde Wirkung besitzt, ergab sich in unserer Arbeit kein Anhaltspunkt: Keine der aus Hühnerhypophysen gewonnenen Fraktionen vermochte beim Huhn i. v. injiziert eine Blutdrucksteigerung zu erzeugen. Wohl gelang es unter besonderen Bedingungen mit Präparaten aus Rinder-H.H.L. (Tonephin) manchmal eine geringe Blutdrucksteigerung zu erzielen. Unsere Befunde sprechen eher dafür, daß dem Vasopressin am Huhn eine gewisse blutdrucksenkende Fähigkeit zukommt.

* Wie unsere Bestimmungen am Blutdruck von Hunden und Katzen ergaben, sind 100 int. Einh. Orasthin durch 2,5 int. Einh. Tonephin verunreinigt. Bei dem selbst hergestellten Präp. I trafen auf 100 int. Einh. Orasthin 16,5 int. Einh. Vasopressin (s. Abb. 1B).

[13] Gulland u. Randall: Biochem. J. (Brit.) **29**, 391 (1935).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg.

Apparaturen zur Dosierung von Flüssigkeiten und Gasen.

Von

Wilhelm Neumann und Otto Klimmer.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. November 1938.)

Bei Versuchen über die pharmakologischen Wirkungen von Gasen bzw. von Dämpfen flüchtiger Stoffe ist die Herstellung eines Luft-Gas-Gemisches von definierter und während der Versuchsdauer möglichst konstant bleibender Zusammensetzung eine notwendige Voraussetzung. Zur Lösung dieser Aufgabe sind verschiedene Apparaturen für Versuche im „strömenden Gemisch" bekannt[1]. Davon sind einige ältere Dosierungsanordnungen ebenso wie die von Eichler[2] angegebene Apparatur nur bei chemisch einheitlichen Stoffen verwendbar. Bei diesen Anordnungen erfolgt eine Verdampfung aus dem gesamten Vorrat einer Flüssigkeit heraus, was bei Gemischen einer fraktionierten Destillation entspricht. Eine gleichmäßige Verdampfung auch von Gemischen verschiedener flüchtiger Stoffe ermöglichten erst zwei von Gross und Kuß[3] bzw. von W. Wirth[4] konstruierte Apparaturen. Beide beruhen darauf, daß die zu untersuchende Flüssigkeit unter praktisch konstantem Druck aus einer Kapillare in einen angeheizten Verdampfer fließt oder tropft und dort einem Luftstrom beigemengt wird. Im hiesigen Institut haben sich beide Apparaturen jahrelang, z. B. bei Arbeiten mit technischen Lösungsmitteln, bestens bewährt. Gelegentlich treten aber immer wieder Störungen ein. Schon Flury und Wirth[4] haben darauf hingewiesen, daß die zu untersuchende Flüssigkeit sorgfältig filtriert und auch frei von Filterfasern gehalten werden muß. Gelangt irgendein Fremdkörperchen in die Kapillare, was bei langdauernden Versuchen meist erst nach einiger Zeit bemerkt wird, so wird der ganze Versuch unbrauchbar. Bei diesen Apparaturen wird außerdem bei stark wirksamen Stoffen die Konzentration oft erheblich höher als notwendig. Es kann dann nur ein Teil des erzeugten Luft-Gas-Gemisches nach weiterer Verdünnung mit Luft für den Versuch benutzt werden, der größte Teil muß in den Abzug geleitet, u. U. vorher durch besondere Filter (vgl. Gross und Hebestreit[1]) noch gereinigt werden.

---

[1] Bis 1931 erschienene Literatur bei Gross u. Hebestreit in Handb. d. biol. Arbeitsmeth. Abt. IV, Teil 16, S. 974ff. — [2] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **175**, 399 (1934). — [3] Zbl. Gewerbehyg. usw. **18**, 95 (1931). — [4] Flury u. Wirth: Arch. Gewerbepath. **5**, 1ff. (1934).

Wir haben daher eine Apparatur konstruiert, bei der der zu untersuchende Stoff aus einer Spritze, nötigenfalls unter Einschaltung eines Vorratsgefäßes, durch Motorantrieb vollkommen zwangsläufig und in beliebig gewählten Mengen einem der bekannten Verdampfer[3, 4] zugeführt wird. In gewissem Umfang wären hierfür auch Spritzen verwendbar, wie sie Straub[5] kürzlich beschrieben hat, bei denen aber die Füllung maximal nur 60 ccm beträgt.

In Fällen, wo aus irgendwelchen Gründen eine direkte Verbindung zwischen Zylinder und Verdampfer nicht ratsam ist, dienen als Vorrats-

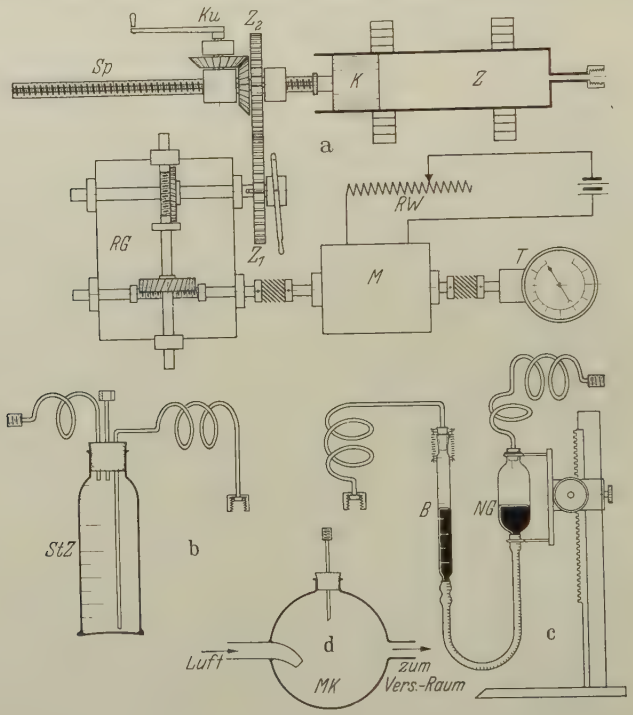


Abb. 1.

gefäß je nach den erforderlichen Mengen entweder Standzylinder mit Füllstutzen oder Büretten (*StZ* bzw. *B* in Abb. 1b und c), aus denen die zu untersuchende Flüssigkeit kontinuierlich durch Wasser verdrängt wird, das seinerseits aus einem Zylinder *Z* durch den Kolben *K* (Abb. 1a) ausgetrieben wird. Die Verbindung der Vorratsgefäße mit dem Zylinder und mit der als Verdampfer dienenden Mischkugel *MK* (Abb. 1d) erfolgt durch Kupferrohre mit Gewinden und Überwurfmuttern oder mit Schliffen, die durch Spannfedern festgehalten werden.

[5] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 456 (1937).

Der Kolben K wird über ein Reduziergetriebe (doppeltes Schneckengetriebe) RG und eine Zahnradübertragung, die auf die Spindel Sp wirkt, durch den Motor M angetrieben. Die Apparatur ist mit einem Satz Zylinder von verschiedenen Durchmessern mit entsprechenden Kolben versehen. Durch einen Satz von Lagerschalen werden die Zylinder auf die Spindel zentriert, die verschiedenen Kolben können an der Spindel leicht ausgewechselt werden. Bei der in Abb. 2 wiedergegebenen Apparatur ist der kleinste Zylinder eingesetzt, 2 der anderen Zylinder und die Lagerschalen sind deutlich sichtbar. Zur Füllung des Zylinders Z wird der Kolben nach Ausrücken des Zahnrades Z_1 mit Hilfe der Kurbel Ku zurückgedreht. Die Menge des austretenden Wassers ist abhängig vom Durchmesser des gewählten Zylinders. Sie kann außerdem festgelegt werden durch Einstellung einer bestimmten Umdrehungszahl des Motors. Letzterer ist zu diesem Zweck mit einem Tachometer T (vgl. auch Abb. 2)

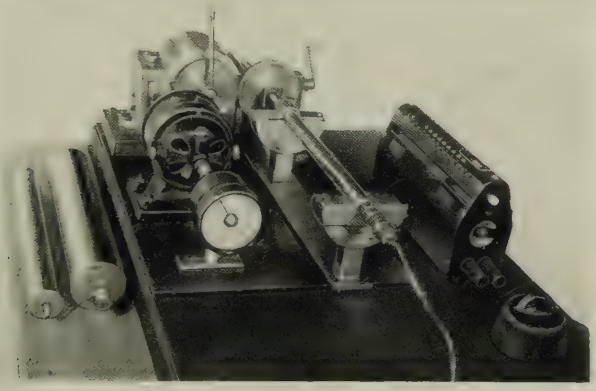


Abb. 2.

verbunden, und in der Stromzuführung liegt ein Regulierwiderstand RW. Die Variationsmöglichkeiten können durch Einbau eines Reduziergetriebes mit verschiedenen Gängen erweitert werden. Außerdem kann, wenn die Versuchsanordnung keine von vornherein festgelegte Ausflußgeschwindigkeit, also keine bestimmte Drehzahl des Motors verlangt, einer der üblichen Synchronmotoren verwendet werden.

Im hiesigen Institut sind Apparaturen der verschiedenen Arten seit über 2 Jahren ständig in Gebrauch bei Ausflußmengen, die sich von einigen ccm/Std. bis 1 Liter/Std. bewegen. Die hydraulische Übertragung der Kolbenbewegung durch Rohrleitungen von beliebiger Länge hat sich besonders bewährt bei langdauernden Arbeiten mit Äther-Luft-Gemischen (vgl. auch K. Beyer[6]), wo bei der unvermeidlichen Funkenbildung der

[6] Biochem. Z., im Druck.

üblichen Motoren besonders sorgfältig auf die Beherrschung der Explosionsgefahr zu achten ist. Wir führten beispielsweise Versuche durch, bei denen stündlich nahezu 1 Liter Äther zu verdampfen war. Bei den dafür erforderlichen großen Zylinderquerschnitten wäre auch eine sichere Abdichtung des Kolbens gegen Äther (oder auch Chloroform) kaum durchführbar. Mit der hydraulischen Übertragung konnten die Versuche aber bequem durchgeführt werden. Bei der Untersuchung besonders giftiger Stoffe schalten wir noch Quecksilber dazwischen (vgl. Abb. 1c). Der zu untersuchende Stoff befindet sich dann in einer Bürette (*B*) über Quecksilber; die Bürette ist durch einen starken Druckschlauch mit einem Niveaugefäß (*NG* in Abb. 1c) verbunden, in welches das Wasser hineingedrückt wird. Diese Anordnung hat den Vorteil, daß nur leicht zu reinigende Teile der Apparatur mit dem Stoff in Berührung kommen und daß jede zufällige Verunreinigung schwer zugänglicher Teile ausgeschlossen wird. Die letztere Anordnung ist übrigens auch bei Arbeiten mit Gasen verwendbar, für welche bisher nur kompliziertere und empfindlichere Apparaturen beschrieben sind[1].

Für Dauerversuche kann eine zweite Zahnradübertragung und ein zweiter Zylinder mit entsprechendem Vorratsgefäß vorgesehen werden. Bei Einfügung einer *T*-Verbindung kann dann ein kontinuierlicher Betrieb mit abwechselnder Leerung und Füllung der beiden Zylinder bzw. der zugehörigen Vorratsgefäße durchgeführt werden. Die übrige Versuchsanordnung erfolgt nach bekannten Vorschlägen. Zur Dosierung des Luftstromes benutzen wir seit Jahren Apparaturen nach Wirth und Tamm[7].

Zusammenfassung.

Für die Herstellung von konstant zusammengesetzten Gemischen aus Gasen oder Dämpfen flüchtiger Stoffe mit Luft werden verschiedene Ausführungsformen einer Apparatur beschrieben, mit der Flüssigkeiten oder Gase zwangsläufig und in beliebig gewählten Mengen einem Luftstrom zugeführt werden können.

[7] Arch. Gewerbepath. **7**, 427 (1937).

Aus der Medizinischen Univ.-Klinik (Direktor: Prof. Hans Curschmann) und dem Pharmakologischen Institut (Direktor: Prof. Dr. Ruickoldt) der Universität Rostock.

Über den Einfluß des Insulins auf die Leber.

Von

F. Meythaler und H. W. Gerstenberg.

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. Oktober 1938.)

I.

Während die Wirkung des Insulins auf die Muskulatur vor allem durch die Arbeiten von Dale, Mann und Magath, Best, sichergestellt worden ist, konnte die Frage des direkten Insulineinflusses auf die Leberzelle bis heute nicht geklärt werden. Dies liegt in methodischen Schwierigkeiten begründet. In zahlreichen Durchströmungsversuchen an der herausgeschnittenen Leber wurde eine sichere Wirkung des Insulins nicht festgestellt. Diese Methode ist demnach für die Erforschung dieses Fragenkomplexes ungeeignet. Am intakten Organismus unter physiologischen Bedingungen vorgenommene Untersuchungen werden durch zwei Tatsachen erschwert:

1. Die Traubenzuckerassimilation ist als Test für das Verhalten der Leber im Kohlenhydratstoffwechsel wenig geeignet, weil die Verwertung des Traubenzuckers zum größten Teil in der Muskulatur erfolgt, und weil der Einfluß der peripheren Faktoren, des Muskelstoffwechsels, nicht auszuschalten ist.

2. Die Verwendung exogenen Insulins schafft unphysiologische Bedingungen, weil die Verteilung des subcutan injizierten Insulins auf Leber und Muskulatur eine ganz andere ist, als die bei der Ausschüttung endogenen Insulins eintretende Verteilung auf die Organe: Das subcutan beigebrachte Insulin verteilt sich gleichmäßig über den ganzen Körper, das endogene Insulin wird zuerst in toto der Leber zugeführt.

Wir haben deshalb in unseren Versuchen die Assimilation eines anderen Kohlenhydrates, der Galaktose, als Test für die funktionelle Leistung der Leber gewählt.

Galaktose, die als Bestandteil des Milchzuckers gleichfalls ein Nahrungskohlenhydrat darstellt, hat vor der Glucose den Vorzug, daß sich aus ihrer Konzentration im Blut eindeutige Schlüsse ziehen lassen. Sie ist normalerweise nicht im Blut vorhanden und wird fast ausschließlich in der Leber assimiliert.

Der zweiten Schwierigkeit suchten wir dadurch zu begegnen, daß wir das Angebot endogenen Insulins direkt variierten und von der Verwendung exogenen Insulins ganz absahen. Einleitend soll kurz auf die Besonderheiten des Galaktosestoffwechsels eingegangen werden, da diese die Voraussetzung für unsere Untersuchungen bildet.

II.

Über den Galaktosestoffwechsel liegen im einzelnen folgende experimentell gewonnene Erkenntnisse vor:

Galaktose wird rasch und vollständig aus dem Darm resorbiert[1, 2]. Der Blutzucker steigt schnell an und sinkt langsam wieder ab, er zeigt nach Galaktosegaben erheblich höhere Werte, als nach entsprechender Belastung mit Glucose oder Lävulose[3].

Eine direkte Oxydation der Galaktose scheint nicht zu erfolgen. Gaswechseluntersuchungen von Roe[3] am Hund haben gezeigt, daß nach kleineren Galaktosegaben (2 g/kg) der respir. Quotient nur geringfügig ansteigt; nach Zufuhr größerer Mengen (5 g/kg) kommt es zu einem deutlichen Anstieg, dieser tritt im Vergleich zu Glucose und Fructose verzögert ein. Roe schließt aus diesen Ergebnissen auf das Fehlen einer unmittelbaren Oxydation der Galaktose. Die Erhöhung des respiratorischen Quotienten erklärt er durch Umwandlung von Galaktose in Glucose. Da bei kleinen Dosen zur Umwandlung nur wenig Galaktose übrigbleibt (Urinausscheidung), wird die Steigerung des respir. Quotienten erst bei großen Galaktosemengen deutlich.

Schmiedt[4] glaubt zwar aus seinen am Menschen vorgenommenen Umsatzbestimmungen auf eine oxydative Verwertung der Galaktose schließen zu können, räumt aber auch der Glykogenbildung einen wichtigen Anteil am Umsatz der Galaktose ein.

Für das Verschwinden der Galaktose aus dem Blute scheint uns die Glykopexiekraft der Leber von entscheidender Bedeutung zu sein.

Die Nierenausscheidung spielt dabei nur eine untergeordnete Rolle. Bei Tartrat-Nephritis mit völliger Retention wird das Verschwinden der Galaktose aus dem Blute nicht wesentlich geändert[5].

Eine Stapelung von Galaktose in der Leber konnte in Rattenversuchen ausgeschlossen werden[6]. In erster Linie kommt eine Umwandlung in Leberglykogen in Frage. Die Glykogenbildung aus Galaktose ist geringer als bei anderen Sacchariden und geht langsamer vor sich[7, 8, 9], aber es scheint der größte Teil der Galaktose in dieser Form in der Leber gestapelt zu werden.

---

[1] Schmiedt: Z. exper. Med. **96**, 185. — [2] Cori: J. biol. Chem. (Am.) **66**, 691. — [3] Roe: Amer. J. Physiol. **11**, 531. — [4] Schmiedt: Z. exper. Med. **91**, 185. — [5] Corley: J. biol. Chem. (Am.) **74**, 1. — [6] Kosterlitz u. Wedler: Z. exper. Med. **87**, 411. — [7] Murschhausel: Pflügers Arch. **139**, 255. — [8] de Lucia: Arch. Sci. biol. **21**, 361. — [9] Cori 1926: Zit. n. Corley, J. biol. Chem. (Am.) **74**, 1.

Strittig ist die Frage, ob der Aufbau zu Glykogen direkt oder auf dem Umwege über ein Zwischenprodukt vor sich geht. Eine Anzahl Untersucher[10, 11] nimmt an, daß in der Leber eine stereomere Umwandlung der Galaktose in Glucose erfolgt.

Roe konnte bei Kaninchen durch Blutzuckerbestimmungen in Vena cava und Vena portae feststellen, daß 15—100 mg Galaktose pro 100 ccm Blut in der Leber zurückgehalten werden, daß dafür aber der Glucosegehalt des Blutes regelmäßig ansteigt. Eine direkte Umwandlung der Galaktose in Glucose ist durch diese Versuche wohl wahrscheinlich gemacht, aber nicht bewiesen. Es wäre möglich, daß die Galaktose nur einen glucosesekretorischen Reiz auf die Leberzelle ausübt. Bilanzuntersuchungen am pankreaslosen Hund[12] lassen erkennen, daß ein Teil der zugeführten Galaktose als Glucose wieder im Darm erscheint. Das gleiche Ergebnis hatten Versuche an menschlichen Diabetikern[13]. Für den Diabetes würde das auf eine erfolgte Umwandlung schließen lassen. Die überlebende künstlich durchströmte Leber vermag die Umwandlung von Galaktose in Dextrose nicht zu vollziehen[14], doch spricht dieser Befund nicht eindeutig dagegen, daß unter physiologischeren Bedingungen im intakten Organismus die Umwandlung eintritt.

Neben der also noch fraglichen Überführung in Glucose kann eine Umwandlung der Galaktose in Fett erfolgen[2].

Besonderes Interesse beanspruchen Versuche von Bollmann, Mann und Power[15] über die Galaktoseverwertung beim hepatektomierten Hund. Während der normale Hund nach intravenöser Galaktosegabe 10—30% im Harn ausscheidet, wurden beim hepatektomierten Hund 50—61% Galaktose im Harn wiedergefunden. Die Galaktoseassimilation wurde also durch die totale Hepatektomie erheblich beeinträchtigt. Wurden nur 50—70% der Leber entfernt, blieb die Galaktoseausscheidung normal. Da durch Galaktosegaben die Hypoglykämie des hepatektomierten Tieres in keiner Weise beeinflußt wurde, konnte eine Umwandlung in Glucose für den leberlosen Hund ausgeschlossen werden. Wenn also normalerweise eine Umwandlung von Galaktose in Glucose erfolgt, findet sie in der Leber statt.

Bei funktioneller Drosselung der Leberzelle durch die Ecksche Fistel ist die Galaktoseverwertung ebenfalls verschlechtert[16, 17]. Die Versuche am leberlosen und am E. F.-Hund zeigen die vorherrschende Rolle der Leber bei der Galaktoseassimilation in eindeutigster Weise. Immerhin erscheint die Galaktose nicht quantitativ im Harn wieder, ein Teil kann

[10] Roe: Amer. J. Physiol. **11**, 530. — [11] Isaac u. Siegel: i. Bethe Bergmann V. 508. — [12] Kosterlitz u. Wedler: Z. Klin. Med. **81**, 792. — [13] Worm-Müller: Pflügers Arch. **36**, 172 (1885). — [14] Isaac u. Adler: Z. physiol. Chem. **115**, 105 (1921). — [15] Bollmann, Mann u. Power: Amer. J. Physiol. **11**, 483 (1935). — [16] Draudt: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **72**, 457. — [17] de Filippi: Z. Biol. **49** (1907).

auch nach Entfernung der Leber der Verwendung zugeführt werden. Offenbar sind auch andere Organe außer der Leber in der Lage, Galaktose aufzunehmen. Pollak[18] hat durch Galaktosebestimmungen in verschiedenen Organen gezeigt, daß besonders Herz und Zwerchfell Galaktose zu adsorbieren vermögen, während die Aufnahme durch die Muskulatur gering ist[19]. Ein Ausfall der Leberfunktion bezüglich der Galaktoseassimilation läßt sich jedoch durch andere Organe nicht voll kompensieren, wie das Absinken der Galaktosetoleranz bei Leberfunktionsstörungen beweist.

Über die Regulierung des Galaktosestoffwechsels durch das Pankreashormon liegen zahlreiche Arbeiten vor. Zunächst schien es, als ob die Verwertung von Galaktose nicht oder nur geringfügig durch Insulin begünstigt würde[20, 21].

Eindeutig konnte die Frage erst beantwortet werden, nachdem eine brauchbare Methode zur getrennten Bestimmung der Galaktose im Blute vorlag[22, 5]. Damit wurde bewiesen, daß sowohl bei intravenöser, als auch bei peroraler Galaktosegabe eine deutliche Besserung der Galaktosetoleranz eintritt[23, 24, 25]. Organanalysen von Ratten ergaben, daß es unter Insulin zu einer rascheren und stärkeren Absorption von Galaktose kommt, das Phänomen ist wiederum in Herz und Zwerchfell besonders ausgeprägt. Später sinkt die Galaktosekonzentration von Leber, Lunge und Herz unter Insulin rascher ab; ein Zeichen dafür, daß Insulin auch den Galaktoseumsatz beschleunigt.

III.

Die Ergebnisse der experimentellen Arbeiten über den Galaktosestoffwechsel lassen sich wie folgt zusammensetzen: Galaktose wird rasch aus dem Darm aufgenommen. Ein großer Teil der resorbierten Galaktose wird in der Leber zurückgehalten, weiterhin zeigt die Muskulatur des Zwerchfells und des Herzens eine hohe Absorptionsfähigkeit für diese Hexose, gering ist die Aufnahme durch die periphere Muskulatur. Eine unmittelbare Oxydation der Galaktose erfolgt nicht oder nur in geringem Ausmaß. Direkt oder auf dem Umwege über einen anderen Körper geschieht der Aufbau zu Leberglykogen.

Die Galaktopexiekraft der Leber ist der entscheidende Faktor für das Verschwinden der Galaktose aus dem Blute. Ein Ausfall der Leberfunktion führt zu einer schweren Beeinträchtigung der Galaktosetoleranz. Durch Insulin wird die Galaktoseassimilation begünstigt.

---

[18] Pollak u. Feher: Klin. Wschr. **1936**, S. 1282. — [19] Foster: Zit. n. Corley, J. biol. Chem. (Am.) **74**, 1. — [20] Basch u. Pollak: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **125**, 89 (1927). — [21] de Lucia: Arch. Sci. biol. **21**, 361. — [22] Somogyi: J. biol. Chem. (Am.) **75**, 33. — [23] Wierzuchowski: Biochem. Z. **230**, 146, 173, 187 (1931). — [24] Pollak u. Feher: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**, 407 (1933). — [25] Pollak u. Feher: Klin. Wschr. **1936**, S. 1282.

IV.

Da über die direkte Insulinwirkung auf die Leber im Gegensatz zur Wirkungsweise des Insulins in der Peripherie eindeutige Versuche fehlen, war uns daran gelegen, am lebenden Tier mit einfacher Versuchsanordnung den Einfluß des Insulins auf die Leberzelle experimentell zu untersuchen.

Zwischen Pankreas und Leber bestehen durch die Gefäßversorgung beim Säugetier enge funktionelle Beziehungen. Das Pankreas ist der Leber vorgeschaltet, sein Inkret muß die Leber passieren, ehe es in den großen Kreislauf gelangt. Schon nach diesen anatomischen Verhältnissen ist zu erwarten, daß das Insulin im Kohlenhydratstoffwechsel einen entscheidenden Einfluß auf die Leber hat.

Belastungsproben mit Galaktose erscheinen zur Klärung dieser Frage deshalb besonders geeignet, weil der Galaktosestoffwechsel seinerseits an die Leber gekoppelt ist. Liegt überhaupt ein Einfluß des Insulins auf die Leberzelle vor, so ist zu erwarten, daß das Insulin bei der in der Leber sich abspielenden Galaktoseassimilation ausschlaggebend beteiligt ist. So ergibt sich die Möglichkeit, die Wirkung des Insulins auf die Leber aus spezifischen Änderungen der Galaktosetoleranz zu erschließen, die bei experimentell gesetzten Störungen der Insulinzufuhr zur Leber zutage treten.

Damit die Untersuchungen unter ganz physiologischen Bedingungen vor sich gehen, ist es notwendig, die Verwendung exogenen Insulins und die damit verbundenen Fehlerquellen zu vermeiden und direkt den Zustrom endogenen Insulins zur Leber zu variieren.

Wir suchten also zu ermitteln, welche Veränderungen die Galaktosetoleranz bei Abwandlung des physiologischen Insulinangebotes an die Leber erfährt.

V.

Galaktosebestimmung im Blut.

Als Maß der Galaktoseassimilation diente in unseren Versuchen der Verlauf der Galaktosekurve des Blutes. Die Galaktosämie gibt ein eindeutiges Bild von der Galaktoseverwertung. Da die Galaktoseausscheidung von verschiedenen anderen Faktoren abhängig ist und ihre Ermittlung keine Förderung der Untersuchungen versprach, wurde auf die Messung der Galaktoseausfuhr ganz verzichtet.

Da die Gesamtreduktion des Blutes einen Bruttowert aus Glukosämie und Galaktosämie darstellt, ist es notwendig, die Galaktose im Blut isoliert zu ermitteln.

Die getrennte Bestimmung der Galaktose erfolgte nach einem Mikrogärverfahren, das sich an die Methode von Somogyi[26] anlehnt.

Wir verwandten frische Bäckerhefe, die täglich aus der gleichen Quelle geliefert wurde. Ein Auswaschen der Hefe erwies sich als überflüssig, da die Eigenreduktion der Hefe außerordentlich konstant war und der durch die Eigenreaktion entstandene Fehler durch Abziehen eines Hefeleerwertes beseitigt werden konnte. In ausgedehnten Vorversuchen wurde die Brauchbarkeit der Hefe für dieses Ver-

[26] Somogyi: J. biol. Chem. (Am.) **75**; 33.

fahren erprobt. Die Bestimmungen wurden anfangs in Glucose-Galaktoselösungen durchgeführt. Es gelang, aus diesen Lösungen 90—100% der darin enthaltenen Gal. wiederzufinden, die Dextrose wurde immer quantitativ vergoren. In einer weiteren Versuchsreihe wurden die Zuckerlösungen bei Anwesenheit von Blut analysiert. Dabei lagen die Galaktosewerte etwas niedriger, als in den vorhergehenden Versuchen, was durch die Fähigkeit des Blutes erklärt ist, Galaktose zu glykolysieren[27, 28]. Die Werte waren durchaus konstant.

Methode.

0,1 ccm Blut werden in 2 ccm einer 2%igen, in physiologischer NaCl-Lösung untergebrachten Hefesuspension einpipettiert und 30 Minuten bei Zimmertemperatur vergoren. Der Zusatz einer gerinnungshemmenden Substanz erübrigt sich, da etwa in der Suspension sich bildende kleine Blutgerinnsel nach Zinksulfat-Laugenzusatz sich wieder lösen, und da in den Vorversuchen sichergestellt war, daß die Glucose im Blut immer vollständig vergoren wird. Nach der Vergärung Zugabe von $ZnSO_4$ und NaOH und 3 Minuten währendes Erhitzen im siedenden Wasserbad. Weiterverarbeitung genau wie bei der Hagedorn-Jensen Methode. Zur Ausschaltung der Eigenreduktion der Hefe dient eine Leerbestimmung mit der Hefesuspension.

Die im Nüchternblut angestellte Gärprobe ergibt nach Abzug des Hefeleerwertes die sog. „Restreduktion" des Blutes, die bei dieser Methode im allgemeinen Werte zwischen 14 und 22 mg% aufweist. Die Restreduktion muß von dem jeweils erhaltenen Reduktionswert abgezogen werden. Um die normale Gärfähigkeit der Hefe sicherzustellen, wird bei jedem Versuch eine Parallelbestimmung aus einer Galaktose-Glucoselösung von bekannter Konz. ausgeführt.

Da Galaktose schwächer reduziert als Glucose, müssen alle aus den Hagedorn-Jensen-Tabellen berechneten Werte mit 1,3 multipliziert werden.

VI.

Galaktosebelastungen an normalen Hunden.

Zunächst wurde die normale Schwankungsbreite der Galaktosetoleranz ermittelt.

6 gesunde Hunde wurden wiederholt mit verschiedenen Galaktosemengen belastet. Während der Versuche wurden die Tiere gleichmäßig mit gemischter Kost ernährt (Kartoffeln, Fleisch, Reis, Küchenabfälle). Die peroralen Belastungen (Magensonde, Galaktose pur. Schering-Kahlbaum gelöst in 200 ccm Wasser) erfolgten mit mehrtägigen Abständen. Vor der Belastung blieben die Hunde 15 Stunden nüchtern.

Die Galaktosetoleranz nach peroraler Belastung weist starke individuelle Schwankungen auf. Es finden sich deutliche Unterschiede in der Galaktoseverwertung bei gesunden Hunden (s. Abb. 1 und 2). Beim einzelnen Tier ist die Nutzbarmachung der Galaktose unter gleichmäßigen Ernährungsbedingungen sehr konstant. Der Galaktoseflächenwert differiert praktisch kaum bei verschiedenen Belastungen an demselben Tier.

---

[27] Machold: Z. Klin. Med. **115**, 244. — [28] Griesbach u. Oppenheimer: Biochem. Z. **50**, 457; **55**, 323.

Es findet sich weiter eine deutliche Abhängigkeit der Galaktoseassimilation von der Ernährung. Durch Fasten wird die Kurve regelmäßig erhöht, der Effekt wird bereits deutlich, wenn die Hunde 63 Stunden nüchtern bleiben (Abb. 3) und verstärkt sich mit der Dauer der Hungerperiode. Eine Toleranzverschlechterung kommt ebenso dann zustande,

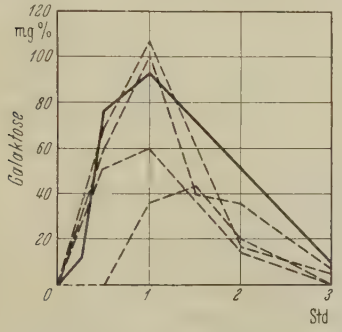


Abb. 1. Perorale Belastung mit 1 g/kg Galaktose, Hunde 15 Std. nüchtern. – – – – 4 gesunde Kontrolltiere, norm. Streuungsbreite. ——— Hund mit Umleitungsvariation nach Meythaler-Stahnke.

wenn die Hunde nach mehrtägigem Fasten einige Tage nur Fleisch erhalten (Abb. 4). Durch reine Kohlenhydratkost wird die Galaktoseassimilation normalerweise nicht beeinflußt.

Es ist naheliegend, die Toleranzverschlechterung für Galaktose nach einer Hungerperiode auf den verminderten Glykogengehalt der Leber zu beziehen.

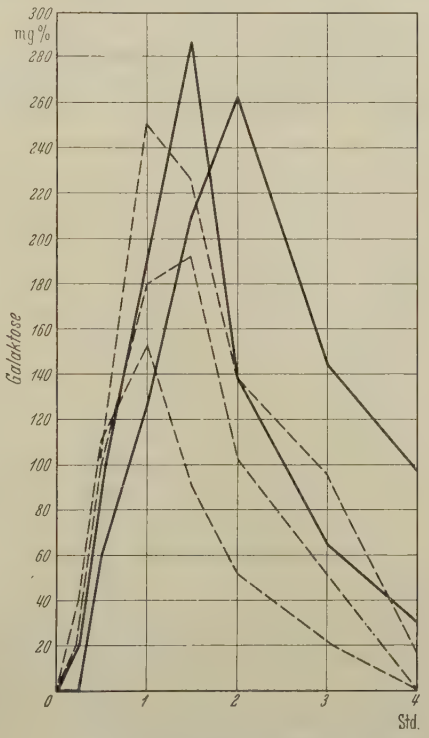


Abb. 2. Perorale Belastung mit 2 g/kg Galaktose, Hunde 15 Std. nüchtern. – – – – 3 gesunde Kontrolltiere, normale Streuungsbreite. ——— 2 Hunde mit Umleitungsvariation n. Meythaler-Stahnke.

Nach einer mehrtägigen Hungerperiode schwindet das Leberglykogen bis auf geringe Reste[29]. Schon nach 2—3 Hungertagen nimmt der Glykogengehalt der Leber deutlich ab. Wir sahen nach 63stündigem Fasten bei einem unserer Versuchstiere 2,8% Glykogen in der Leber (gegenüber einem Glykogengehalt von über 5% bei zwei gleich ernährten Kontrolltieren). Junkersdorf fand nach 11 Hungertagen einen Glykogengehalt der Leber von 0,8—1,74% [30].

Die Feststellung, daß die Funktionstüchtigkeit der Leber im Kohlenhydratstoffwechsel von ihrem Glykogengehalt abhängig ist, wurde wiederholt erhoben.

[29] Ishimari: Biochem. Z. **48**, 332 (1913). — [30] Junkersdorf: Pflügers Arch. **186**, 238.

Beim Kaninchen führt jede Verminderung des Glykogengehaltes der Leber zu einer Abnahme der Toleranz gegenüber Glucose und Lävulose[31]. Die gleiche Toleranzverschlechterung im Hunger konnten Roe u. a.[10, 32] bei Galaktosebelastungen am Kaninchen feststellen. Die Störung war nach 4 Tagen Fasten ausgesprochener als nach einem Hungertag. Fischler[33] betont mit Recht, daß der normale Ablauf der intermediären Umsetzung an das Vorhandensein der Kohlenhydrate gebunden ist. Alle Momente, die eine Entblößung der Leber von einem Mindestgehalt an Kohlenhydraten zur Folge haben, führen zu schweren Störungen des Stoffwechsels.

Auch durch reine Fleischkost gelingt es nach voraufgegangener Hungerperiode in unseren Versuchen nicht, die einmal bestehende Assimilations-

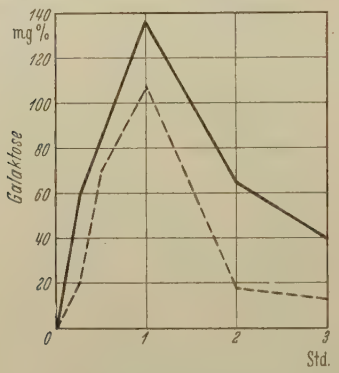


Abb. 3. 1 g/kg Galaktose peroral.
– – – – 15 Std. nüchtern.
——— 63 Std. nüchtern.

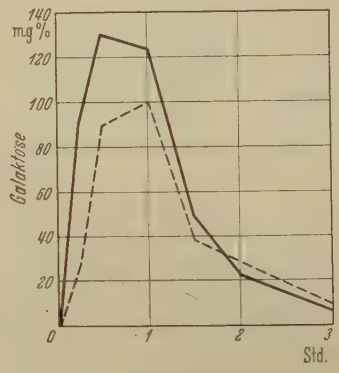


Abb. 4. 1 g/kg Galaktose peroral.
– – – – 15 Std. nüchtern.
——— 4 Tage nüchtern, danach 3 Tage isolierte Fleischkost.

störung zu beseitigen. Das ist insofern auffallend, als Junkersdorf durch einseitige Ernährung mit Eiweiß einen erheblichen Glykogenansatz (6,3% i. D.) in der Hungerleber erzielte[34]. Allerdings war die Eiweißzufuhr in Junkersdorfs Versuchen größer als in den unsrigen, auch die voraufgegangene Hungerperiode war erheblich länger. (Wir gaben nach 4 Hungertagen 3—4 Tage lang täglich $^1/_2$ kg Pferdefleisch.) Das Bestehenbleiben der Assimilationsverschlechterung nach eiweißreicher Ernährung kann im Sinne Junkersdorfs nur als eine erhöhte Beanspruchung der Leberzelle gedeutet werden. In der primär glykogenreichen Leber sah Junkersdorf[35] ein Absinken des Glykogengehaltes nach reiner Eiweißzufuhr. Ein ähnlicher Einfluß der Eiweißkörper auf den Kohlenhydratstoffwechsel geht aus einer Arbeit Pletnews hervor, der nach isolierter Gabe von bestimmten Eiweißabbauprodukten ein Absinken der Assimilationsgrenze von per os aufgenommenem Traubenzucker beobachtete[36].

Als Ergebnis der unter verschiedenen Bedingungen vorgenommenen Galaktosebelastungen an normalen Hunden ist festzuhalten:

---

[31] Ikushima: Japan J. Gastroenter. **3**, 54—59. — [32] Reinhold u. Karr: J. biol. Chem. (Am.) **72**, 345. — [33] Fischler: Physiologie u. Pathologie der Leber, Berlin 1925. — [34] Junkersdorf: Pflügers Arch. **186**, 254. — [35] Junkersdorf: Ebenda **192**, 305. — [36] Pletnew: Biochem. Z. **21**, 355.

Die Galaktosetoleranz des gesunden Hundes zeigt starke individuelle Schwankungen. Sie ist von der Ernährung der Tiere abhängig. Ein ausreichender Glykogengehalt der Leber ist Voraussetzung für den normalen Ablauf der Galaktoseassimilation.

VII.

Galaktosebelastungen an Hunden mit gedrosselter Insulinzufuhr zur Leber.

Zur experimentellen Änderung des physiologischen Angebotes von endogenem Insulin an die Leber kommen grundsätzlich zwei Möglichkeiten in Betracht:

1. Eine Umleitungsvariation (Umleitung der V. p. d. in die Vena cava).
2. Die partielle Resektion der Bauchspeicheldrüse.

Die Ecksche Fistel ist für unsere Fragestellung ungeeignet. Da nicht nur das Insulin, sondern auch die anfallenden Nahrungsstoffe die Leber umgehen, ist eine schwere Funktionsstörung dabei unvermeidlich; eine „funktionelle Drosselung" (Fischler) der Leber muß aber ohnehin zu einer Herabsetzung der Galaktoseassimilation führen, allein deshalb, weil der Glykogengehalt der Leber stark vermindert wird[37]. Es ist eine Modifikation dieser Methode erforderlich, bei der wohl das endogene Insulin an der Leberpassage gehindert wird, der Zustrom von Nahrungsstoffen zur Leber aber erhalten bleibt, d. h. eine Umleitung des endogenen Insulins unter Schonung des funktionellen Hauptgefäßes der Leber, der Vena portae. Diese Forderung wird erreicht bei der von Meythaler und Stahnke[38], angegebenen Umleitungsvariation. Durch diese kann das physiologischerweise bestehende direkte Insulinangebot an die Leber mittels Anastomose der Vena pancreatico-duodenalis zur Vena renalis dextra geändert werden, daß das Insulin die Leber erst auf dem Umwege über die Art. hepatica erreicht. Dies kommt praktisch einer Drosselung der Insulinzufuhr zur Leber gleich, da unter diesen Bedingungen die Leber das Insulin in stärkerer Verdünnung, nach Passage anderer Organe und in unphysiologischer Weise auf arteriellem Wege, erhält. Es ist zu erwarten, das unter diesen Verhältnissen der größte Teil des Insulins in der Peripherie zurückgehalten wird und nur ein Bruchteil die Leber erreicht.

Die Operation wurde an zwei Hunden ausgeführt. Betr. der methodischen Einzelheiten verweisen wir auf frühere Veröffentlichungen von Meythaler. Beide Hunde überstanden den Eingriff gut und wurden unter denselben Bedingungen perorsl mit Galaktose belastet, wie die gesunden Kontrollen.

Ergebnisse.

Die Belastungen zeigen einen anderen Verlauf als bei den Normaltieren. Die Kurven liegen an der äußeren Grenze der normalen Streuungsbreite (1 g-Belastungen, Abb. 1). Bei größeren Galaktosemengen (2 g-

[37] de Filippi: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **50**, 38 (1907). — [38] Meythaler u. Stahnke: Ebenda **152**, 185 (1930).

Belastungen, Abb. 2) gehen sie darüber hinaus. Leider war es nicht möglich die Belastungen vor und nach der Operation vorzunehmen. Nur bei einem Hund wurde die Kontrolluntersuchung vor der Operation durchgeführt, allerdings wurde in diesem Falle die Gesamtreduktion des Blutes ermittelt (3 g-Belastung, Abb. 5). Da aber getrennte Bestimmungen von Galaktose und Glucose bei den Hunden mit gedrosselter Insulinzufuhr zur Leber ergeben haben, daß erhebliche Schwankungen der Glucosämie niemals auftreten, ist es möglich, diesen Befund in Ergänzung der übrigen zu verwerten. Aus dem Vergleich der beiden Kurven ergibt sich eine Verschlechterung der Galaktoseassimilation nach Sperre der Insulinzufuhr zur Leber.

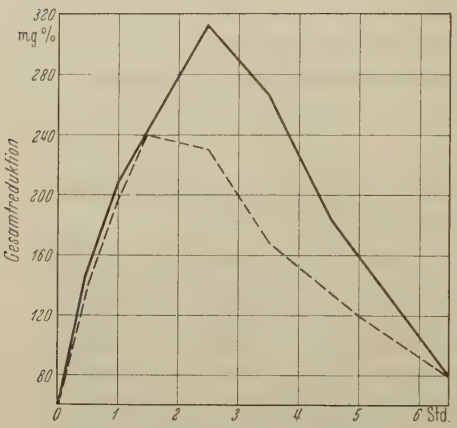


Abb. 5. 3 g/kg Galaktose peroral, Gesamtreduktion des Blutes.
– – – vor } Ausführung der Umleitungs-
——— nach } variation nach Meythaler-Stahnke.

Auch bei Belastungen unter veränderten Ernährungsbedingungen verhalten sich die Hunde mit Umleitung der V. p. d. ähnlich wie die Kontrolltiere. Hunger allein, wie auch mit nachfolgender Fleischkost, setzt die Assimilationsfähigkeit herab. Der Effekt ist vielleicht etwas

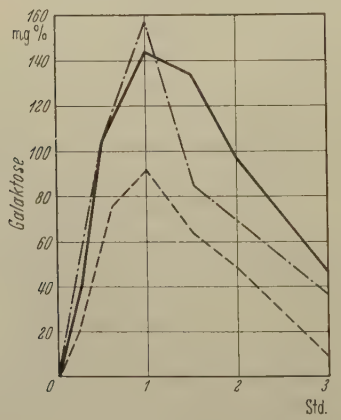


Abb. 6. Umleitungsvariation.
1 g/kg Galaktose peroral.
– – – – 15 Std. nüchtern.
——— 87 Std. nüchtern.
–·–·– 4 Tage nüchtern, danach 4 Tage isolierte Fleischkost.

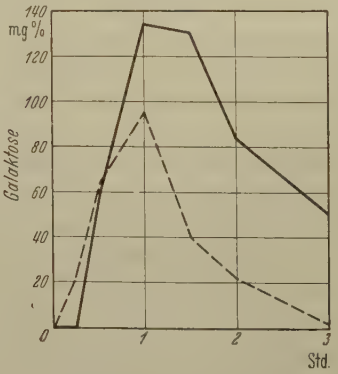


Abb. 7. Umleitungsvariation.
1 g/kg Galaktose peroral.
– – – – 15 Std. nüchtern.
——— 15 Std. nüchtern, vorher 5 Tage isolierte Kohlenhydratkost.

deutlicher als beim normalen Hund. Auffallend ist, daß bei Hunden mit Umleitungsvariation in der Nahrung trotz reichlicher Kohlenhydratkost

im Gegensatz zum Normaltier die Toleranz ebenfalls verschlechtert wird (Abb. 7). Eine Erklärung dieses Befundes ist vorerst nicht möglich.

Die Drosselung des Insulinzustroms zur Leber führt zu einer relativen Toleranzverschlechterung für Galaktose. Die Galaktosämiewerte gehen über diejenigen von physiologischerweise mäßig tolerierenden Normalhunden hinaus.

VIII.

Galaktosebelastungen an partiell depankreatierten Hunden.

Die zweite Möglichkeit, das Insulinangebot an die Leber durch operative Entfernung eines Teiles der Bauchspeicheldrüse zu vermindern, wurde ebenfalls untersucht.

Durch die partielle Pankreatektomie wird die Insulinproduktion insgesamt verringert. Es gelang uns, die Bedingungen im einzelnen dadurch zu variieren, daß verschieden große Anteile des Pankreas bei den einzelnen Hunden entfernt wurden. Die Operation wurde an drei Hunden ausgeführt, $^1/_2$, $^4/_5$, $^9/_{10}$ der Drüse wurde reseziert.

Ergebnisse.

1. Hund J. Resektion des halben Pankreas (normale Blutzuckerwerte 90 mg%).

Die Belastungsproben vor und nach der Depankreation ergeben keinen nennenswerten Unterschied. Der Hungerversuch zeigt eine analoge Kurvenerhöhung wie beim Normaltier. Die Galaktoseassimilation ist nach der Operation unverändert. Das auf die Hälfte reduzierte endogene Insulin reicht offenbar aus, um Leber und Peripherie ausreichend zu versorgen.

Der Funktionsausfall der halben Bauchspeicheldrüse führt zu keiner Beeinträchtigung der Galaktosetoleranz.

2. Hund A. Resektion von $^4/_5$ des Pankreas (normale Blutzuckerwerte 85—105 mg%).

Der Vergleich der vor und nach der Operation ausgeführten Galaktosebelastungen zeigt, daß eine erhebliche Toleranzverbesserung für Galaktose eingetreten ist. Im Hungerversuch (112 Stunden) kommt es zwar zu einer wesentlichen Kurvenerhöhung, die nach der Operation gewonnene Hungerkurve umfaßte aber nur etwa denselben Flächenwert, wie die Normalkurve vor der Pankreatektomie, d. h. nach $4^1/_2$tägigem Fasten ist die Toleranz des depankreatierten Hundes noch auf gleicher Höhe, wie im Normalversuch ohne Hungerperiode. Die Toleranzverbesserung kommt also unter normalen Ernährungsbedingungen, wie auch im Hungerversuch deutlich zum Ausdruck (vgl. im Gegensatz dazu Kurve 8).

Der Funktionsausfall von $^4/_5$ der Bauchspeicheldrüse bewirkt eine auffallende Hebung der Galaktosetoleranz.

3. Hund F. Resektion von $^9/_{10}$ des Pankreas. Sandmeyer-Diabetes (normaler Blutzuckerwert 260 mg%). Wegen der bestehenden Glucosämie wurden zur Galaktosebestimmung halbe Blutmengen (0,05) verwandt, um eine vollkommene Vergärung sicherzustellen).

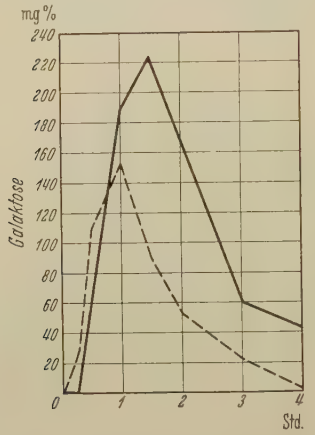


Abb. 8. Resektion des halben Pankreas 2 g/kg Galaktose peroral.
Normalversuch,
– – – – 15 Std. nüchtern vor Ausführung der partiellen Pankreatektomie.
Hungerversuch,
——— 111 Std. nüchtern nach Ausführung der partiellen Pankreatektomie.

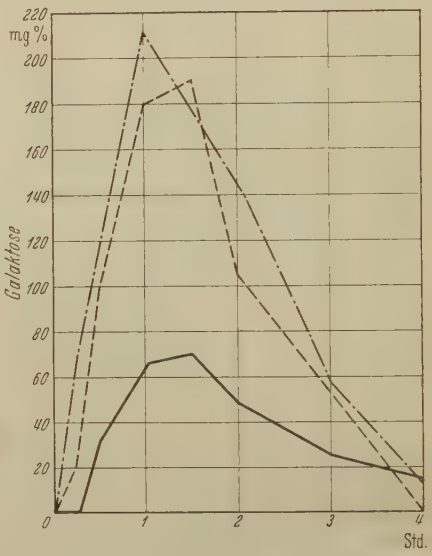


Abb. 9. $^4/_5$ Resektion des Pankreas, 2 g/kg Galaktose peroral.
– – – – Normalversuch 15 Std. nüchtern, vor Ausführung der partiellen Pankreatektomie. ——— Normalversuch 15 Std. nüchtern, nach Ausführung der partiellen Pankreatektomie. –•–•– Hungerversuch 111 Std. nüchtern, nach Ausführung der partiellen Pankreatektomie.

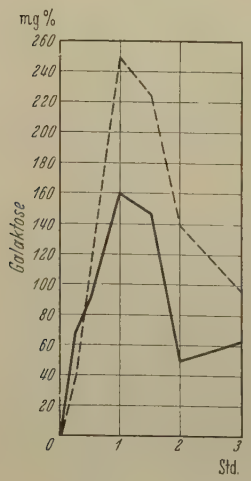


Abb. 10. $^9/_{10}$ Resektion des Pankreas Sandmeyer-Diabetes. 2 g/kg Galaktose peroral.
– – – – Normalversuch vor Pankreatektomie.
——— 15 Std. nüchtern nach Pankreatektomie.

Auch bei diesem Hund ist nach der Operation eine merkliche Besserung der Galaktosetoleranz eingetreten (Abb. 10), wenn auch nicht in dem Ausmaß, wie bei den vorigen. Ein Hungerversuch konnte nicht mehr durchgeführt werden, da der Hund wenige Tage nach dieser Belastung zugrunde ging.

Die Besserung der Galaktosetoleranz ist auch beim Sandmeyer-Diabetes ($^9/_{10}$-Reaktion des Pankreas) deutlich ausgeprägt.

Eine Kontrolle der Verhältnisse am vollständig pankreatektomierten Hund sollte gleichfalls erfolgen, die Pankreatektomie wurde ausgeführt, leider kam der Hund nach 3 Tagen im Koma ad exitum. Es liegen jedoch Versuche am pankreaslosen Hund vor, welche den Einfluß der totalen Pankreasentfernung auf den Galaktosestoffwechsel deutlich erkennen lassen, die wir hier kurz anführen:

Durch Kosterlitz und Wedler[39] wurde festgestellt, daß beim pankreaslosen Hunde die zugeführte Galaktose quantitativ wieder im Harn erscheint, ein Teil unverändert als Galaktose, ein Teil als Glucose.

Roe[40] fand zwar im Gegensatz dazu, daß über die Hälfte der Galaktose im Gewebe des pankreaslosen Hundes gespeichert wird, er sah keine Umwandlung in Glucose eintreten. Seine Stoffwechselbefunde wurden aber durch Untersuchungen von Bollmann und Frank widerlegt[41].

Kosterlitz und Wedler schließen aus der beim pankreaslosen Tier erfolgten Umwandlung der Galaktose in Glucose, daß die primäre chemische Assimilation der Galaktose ohne Insulin vor sich geht[42]. Sie vernachlässigen dabei die von ihnen selbst angegebenen Prozentzahlen der unverändert im Harn wiedererscheinenden Galaktose. 38—53% der eingegebenen Galaktose wurden vom pankreaslosen Hund im Harn ausgeschieden. Diese Befunde zeigen ausgezeichnete Übereinstimmung mit denen von Roe, der 32—57% der Galaktose im Harn seiner total pankreatektomierten Versuchstiere wiederfand (gegenüber 17—30% bei gesunden Kontrollen).

Mit der von Bollmann angegebenen Ausscheidungsquote des hepatektomierten Hundes sind diese Zahlen nicht absolut vergleichbar, weil die Galaktose von Bollmann intravenös gegeben wurde.

Daß eine Umwandlung von Galaktose in Glucose ohne Insulin erfolgen kann, ist nach den Versuchen von Kosterlitz und Wedler nicht zu bezweifeln. Wir glauben allerdings nicht, daß es sich dabei um einen direkten Aufbau der Galaktose zu Leberglykogen ohne Übergang in Glucose handelt und nur durch Glykogenzerfall, bei Fehlen von Insulin, die Glucose frei wird und zur Ausscheidung gelangt[43]. Der Nachweis für eine Mitwirkung von ohne Insulin erfolgender Glykogenbildung aus Galaktose konnte auch von Kosterlitz und Wedler nicht erbracht werden.

Die Erhöhung der Ausscheidungsquote unveränderter Galaktose im Harn spricht jedenfalls eindeutig für eine Verschlechterung der primären Assimilationsleistung der Leber.

Beim pankreaslosen Hund ist die Galaktosetoleranz deutlich verschlechtert. Die assimilierte Galaktose wird

---

[39] Kosterlitz u. Wedler: Z. exper. Med. **87**, 405 (1933). — [40] Roe: Science (N. Y.) **1933**, I, 331. — [41] Bollmann u. Frank: Amer. J. Physiol. **107**, 183 (1934). — [42] Kosterlitz u. Wedler: Z. exper. Med. **90**, 465. — [43] Kosterlitz u. Wedler: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **173**, 159 (1933).

wegen der bestehenden diabetischen Störung quantitativ als Glucose im Harn ausgeschieden. Eine Verwertung der Glucose ist bei völligem Insulinmangel nicht möglich.

IX.

Bewertung der Ergebnisse.

1. Die Abhängigkeit der Galaktoseassimilation vom Glykogengehalt der Leber, die in den Versuchen sowohl bei normalem als auch bei experimentell geändertem Insulinangebot deutlich wird, unterstreicht die wichtige Funktion der Leber im Galaktosestoffwechsel. Ihr fällt die Aufgabe zu, den Hauptteil der aus dem Darm resorbierten Galaktose abzufangen; der Rest, der die Lebersperre passiert, wird, soweit er nicht von anderen glykogenhaltigen Organen (Herz, Zwerchfell) absorbiert wird, als Fremdkörper behandelt und im Harn ausgeschieden. Die Galaktopexiekraft der Leber stellt den entscheidenden Faktor dar für das Ausmaß der Galaktoseverwertung.

Je glykogenreicher aber die Leber ist, desto mehr Galaktose vermag sie zurückzuhalten. Die normale Assimilation der Galaktose ist an einen reichlichen Glykogengehalt der Leber gekoppelt.

2. Die relative Toleranzverschlechterung der Hunde mit Insulinumleitung ist um so auffallender, als bei diesen Tieren die Leber über die Norm glykogenreich gefunden wurde. Die Leberzellen befinden sich in einem Zustand, der normalerweise mit einer gesteigerten Fähigkeit zur Galaktopexie einhergehen müßte. Demnach muß die Assimilationsleistung der Leber von einer anderen Bedingung abhängig sein.

Bei der Umleitungsvariation wird die physiologische Leberpassage des Pankreashormons unterbunden. Es resultiert bei dieser Versuchsanordnung eine Umkehr in der Insulinverteilung auf den Organismus: Maximales Insulinangebot an die Peripherie bei minimalster Insulinzufuhr zur Leber.

Wir sehen in dem nahezu völlig fehlenden Zustrom endogenen Insulins zur Leber die Ursache der relativ schlechten Assimilationsleistung dieses Organs. Die Toleranzverschlechterung würde noch auffallender sein, wenn nicht durch die maximale Insulinversorgung der Peripherie ein gewisser Ausgleich stattfände. Es ist nach Pollaks[44] Organuntersuchungen zu erwarten, daß die Galaktose in diesem Falle von einigen peripheren Organen, die bei der Umleitungsvariation weit über das physiologische Maß Insulin erhalten, bevorzugt absorbiert wird. Da die Leberassimilation im Galaktosestoffwechsel den Ausschlag gibt, resultiert insgesamt eine Abnahme der Toleranz als Folge der Insulinverarmung der Leberzelle.

---

[44] Pollak: Klin. Wschr. **1936**, II, 1282.

3. Der Befund bei den partiell depankreatierten Hunden liefert die notwendige Ergänzung dieser Vorstellungen: Die Entfernung des halben Pankreas wird ohne jede Reaktion vertragen, die Insulinversorgung bleibt danach für die Galaktoseassimilation ausreichend.

Die Entfernung von $^4/_5$ des Pankreas führt noch nicht zum Manifestwerden eines Diabetes. Trotzdem ist der Galaktosestoffwechsel erheblich beeinflußt, auffallenderweise im Sinne einer Besserung der Toleranz.

Durch die Verringerung der gesamten Insulinproduktion treten spezifische Änderungen in der Insulinversorgung der Organe ein, die sich wesentlich von den durch die Umleitungsvariation geschaffenen Verhältnissen unterscheiden.

Da die Leber das Insulin aus erster Hand von der Bauchspeicheldrüse erhält, kann sie auch bei vermindertem Angebot noch einen großen Teil ihres Bedarfs decken; um so stärker wirkt sich der Insulinmangel an den peripheren Organen aus, für die nach der Leberpassage nur wenig Insulin übrigbleibt.

Die Verteilung des Insulins wird durch die partielle Pankreatektomie derart variiert, daß die Leber den Hauptteil des produzierten Insulins abfängt und die Peripherie nur minimale Insulinmengen erhält.

Entscheidend sind, wie immer im Galaktosestoffwechsel, die Verhältnisse in der Leber. Die Untersuchungen zeigen, daß ein geringer Zustrom endogenen Insulins zur Leberzelle für die normale Galaktoseassimilation ausreicht. Es hat sogar den Anschein, als ob ein relativer Insulinmangel in der Leber die Galaktoseassimilation begünstigt. Die Steigerung der Galaktosetoleranz bei diesem Hund kann kaum anders gedeutet werden, als durch einen Fortfall von Hemmungen, die bei stärkerem Insulinangebot auf den Vorgang der Glykogenbildung aus Galaktose einwirken.

4. Die Befunde beim Sandmeyer-Diabetes ($^9/_{10}$-Resektion des Pankreas) sind in gleicher Weise zu erklären. Durch das in geringerer Menge, aber auf physiologischem Wege, der Leberzelle zuströmende Insulin wird die Galaktoseverwertung auch hier gesteigert. Es ist damit gelungen, die Verhältnisse, die sich bei der Galaktoseassimilation des menschlichen Diabetikers finden, im Tierexperiment nachzuahmen.

5. Die am pankreaslosen Hund beobachtete Verschlechterung der Galaktosetoleranz steht in Analogie zu den bei der Insulinumleitung erhobenen Befunden. Die extreme Drosselung der Insulinzufuhr zur Leber, die einmal durch Ausschaltung der Insulinproduktion, das andere Mal durch Ableitung des ausgeschütteten Insulins zur Peripherie erzielt wird, ist mit einer normalen Assimilationsleistung der Leber nicht mehr vereinbar. In beiden Fällen sinkt die Galaktoseassimilation ab, beim pankreaslosen Hund deutlicher, weil ihm auch in der Peripherie das Insulin

mangelt. Der Hund mit Umleitung der V. p. d. vermag wenigstens einen Teil der Fehlleistung der Leber durch gesteigerte Galaktoseabsorption in der Peripherie auszugleichen.

Die aufgefundenen Beziehungen kommen am deutlichsten zum Ausdruck, wenn man die beim umgeleiteten Hund gewonnene Belastungskurve mit der des partiell pankreatektomierten Hundes vergleicht (Abb. 11). Die Verschiebung der physiologisch im Organismus bestehenden Insulinverteilung zugunsten der Peripherie (Umleitungsvariation) wirkt sich nachteilig für den Galaktosestoffwechsel aus. Die Verschiebung zugunsten der Leber mit gleichzeitiger Verringerung des Insulinangebotes (partielle Pankreatektomie) führt zur Förderung der Galaktoseassimilation.

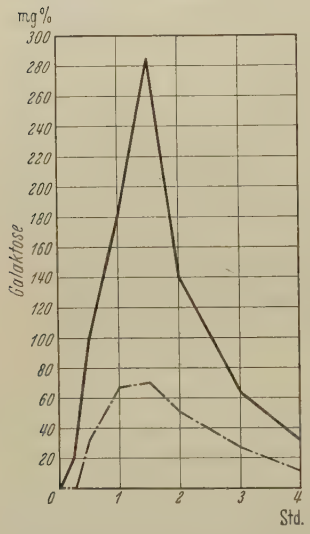


Abb. 11. Normalversuche an 15 Std. nüchternem Tier mit 2 g/kg Galaktose peroral.
– · – · – Partielle Pankreatektomie (4/5 Resektion).
——— Umleitungsvariation nach Meythaler-Stahnke.

Der direkte Zustrom endogenen Insulins zur Leber ist für den normalen Ablauf der Galaktoseassimilation notwendige Voraussetzung.

Es ergibt sich also, daß das Insulin vorzugsweise durch die Regulierung der Leberzelltätigkeit den Galaktosestoffwechsel beherrscht.

Die hepatotrope Wirkung des Insulins ist der entscheidende Faktor für die Galaktoseassimilation.

X. Anhang.

Glykogenbestimmungen.

Nach Beendigung der Versuche wurden die Hunde getötet und der Glykogengehalt der Leber ermittelt.

Die Glykogenanalysen wurden nach der Methode von Somogyi[45], die Zuckerbestimmungen im Hydrolysat nach Shaffer-Hartmann ausgeführt.

Die Tiere wurden unter den gleichen Bedingungen getötet, wie sie im Normalversuch vorlagen. Die Ernährung war dieselbe und die Hunde blieben vor der Tötung 15 Stunden nüchtern. Auf diese Weise wurde annähernd der Glykogengehalt ermittelt, wie er bei den Belastungen vorlag. Die Zahl der Versuchstiere erlaubte es nicht, diese Bedingungen in Parallele zu den bei den Galaktoseversuchen vorgenommenen Variationen häufig zu ändern. Nur ein Hund (G.) wurde vor dem Tode 6 Tage fleischfrei ernährt und bei einem Hund (F.) wurde der Glykogengehalt der Leber nach 63stündigem Fasten ermittelt.

[45] Aus Hinsberg: Med.-chemische Untersuchungen 1938.

Die Ergebnisse (Abb. 11) zeigen, daß der Glykogengehalt der Leber bei unseren Versuchstieren auffallend hoch war. Wir fanden bei den normalen Kontrollhunden über 5% Leberglykogen. Die Ursache sehen wir darin, daß die Tiere mehrere Monate im Käfig gehalten wurden und durch die Galaktosebelastungen im Laufe der Zeit große Kohlenhydratmengen erhielten. Die Leber des nach 63stündigem Fasten getöteten Hundes (F.) enthielt deutlich weniger Glykogen (2,8%).

Wesentlich für unsere Untersuchungen ist die Tatsache, daß bei den Hunden mit Umleitungsvariation reichlich Glykogen in der Leber gefunden wurde. Der Wert von 5,3% bei Hund (M.) entspricht den hohen Glykogenzahlen bei den Kontrollen (B. und G.). Hund (S.) zeigt mit 7,4% demgegenüber noch eine deutliche Steigerung.

Dieser hohe Glykogengehalt der Leber ist um so auffallender, als bei der Umleitungsvariation das endogene Insulin zur Peripherie geleitet wird und daher ein vermehrtes Brenntempo in der Muskulatur anzunehmen ist. Die relativ niedrigen Blutzuckerwerte (s. die frühere Veröffentlichung von Meythaler und Stahnke) und die hohe Kohlenhydrattoleranz bei der Umleitungsvariation deuten darauf hin. Es wäre zu erwarten, daß eine reichliche Mobilisierung von Kohlenhydraten aus der Leber erfolgt. Der hohe Glykogengehalt der Leber trotz großen Kohlenhydratbedarfs der Peripherie kann demnach nur in einer gesteigerten Glykogenfixation in der Leber seine Erklärung finden.

Bei den partiell depankreatierten Hunden konnte aus äußeren Gründen nur in zwei Fällen das Leberglykogen bestimmt werden. Nach $^5/_{10}$-Resektion des Pankreas, durch die eine Änderung der Galaktosetoleranz nicht erzielt wurde, lag der Glykogengehalt der Leber nicht wesentlich höher als bei den Kontrolltieren (5,8%). Dagegen war nach $^4/_5$-Resektion eine erhebliche Vermehrung des Leberglykogens festzustellen (8,2%).

Die Deutung dieser Befunde ist erst nach einer größeren Anzahl von Untersuchungen möglich. Jedoch kann schon nach diesen Ergebnissen vermutet werden, daß eine erhebliche Verminderung der Insulinproduktion (partielle Pankreatektomie) zu einer Glykogenstapelung in der Leber führt. Offenbar steht der Glykogenreichtum der Leber nach Umleitungsvariation in ähnlicher Weise mit der Insulinverarmung der Leberzelle in ursächlichem Zusammenhang.

Tabelle 1. Leberglykogenwerte.

Nr.	Hund	Variationen der Insulinzufuhr	Leberglykogen in %	Ernährung
1	B.	Normale Verhältnisse	5,2	Normal
2	G.	Normale Verhältnisse	5,5	6 Tage fleischlos
3	F.	Normale Verhältnisse	2,8	63 Stunden nüchtern
4	M.	Umleitungsvariation	5,3	Normal
5	S.	Umleitungsvariation	7,4	Normal
6	J.	$^5/_{10}$ Resektion des Pankreas	5,8	Normal
7	A.	$^4/_5$ Resektion des Pankreas	8,2	Normal

Es zeigt sich, daß den deutlichen Unterschieden im Verhalten der beiden Versuchsgruppen (mit Variation der Insulinzufuhr zur Leber) in den Galaktoseversuchen gemeinsame Charakteristica im Verhalten des Leberglykogens gegenüberstehen: Sowohl nach partieller Pankreatektomie als auch nach Ausführung der Umleitungsvariation wurde die Leber besonders glykogenreich gefunden. Es hat danach den Anschein, als ob jede Verminderung des normalen Insulinzustroms zur Leber mit einer vermehrten Glykogenfixation in der Leber beantwortet wird.

Diese Hypothese gewinnt durch folgende Feststellung an Wahrscheinlichkeit: Bei Hund A. ($^4/_5$-Resektion) war es in mehrfachen Versuchen trotz des starken Glykogengehalts der Leber nicht möglich, durch subcutane Adrenalingaben (1,5 mg) eine Hyperglykämie zu erzielen. Der Blutzucker stieg im Höchstfall auf 130 mg% an. Das gleiche Phänomen findet sich konstant bei den Hunden mit Umleitungsvariationen.

Meythaler konnte bereits in seiner ersten Veröffentlichung über diese Methodik darauf hinweisen, daß es nach Umleitung des endogenen Insulins nicht gelingt, eine Adrenalinhyperglykämie zu erzeugen, obwohl die Leber dieser Tiere viel Glykogen enthält. Wir konnten diese Tatsache an unseren Hunden erneut bestätigen (Hund S. nach 1,5 mg Adrenalin subcutan: Blutzuckeranstieg auf 100 mg%; Hund M. nach gleicher Adrenalingabe: Anstieg auf 115 mg%). Auch diese Befunde deuten auf eine gesteigerte Fähigkeit der Leber, das Glykogen festzuhalten, die sowohl nach Entfernung eines großen Teiles der Bauchspeicheldrüse als auch nach Umleitung des endogenen Insulins manifest wird. Weitere Versuche zur Klärung dieser Beziehungen sind im Gange, die ausführliche Besprechung bleibt einer späteren Veröffentlichung vorbehalten.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik, Leipzig.
(Direktor: Prof. Bürger.)

Zur Methode der fortlaufenden Registrierung der Farbe des menschlichen Blutes.

Von
K. Matthes und **F. Gross.**

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. November 1938.)

Die fortlaufende Aufzeichnung der Farbe des strömenden Blutes kann uns Auskunft geben über die Sauerstoffsättigung des Blutes oder gegebenenfalls über den Gehalt des Blutes an pathologischen Derivaten des Blutfarbstoffes wie Kohlenoxydhämoglobin und Methämoglobin. Beim Menschen kann die Farbe des Blutes nur dadurch aufgezeichnet werden, daß man einen von Blut durchströmten Körperteil, etwa die Ohrmuschel oder einen oder mehrere Finger mit Licht durchstrahlt und das nicht absorbierte Licht mit Hilfe einer Photozelle registriert. Die durchgelassene Lichtmenge hängt dann einerseits von der Menge, andererseits von der Farbe des Blutes ab, das sich in dem durchleuchteten Körperteil befindet. Die Photozelle registriert gleichzeitig die Farbe des Blutes und ein Plethysmogramm des durchleuchteten Körperteils. Um die Schwankungen des Blutgehaltes des durchleuchteten Ohrläppchens möglichst auszuschalten, führte Matthes[1] vor der Durchleuchtung eine Histaminiontophorese durch. Dadurch werden die Kapillaren und Arteriolen erweitert und ihre Vasomotorik ausgeschaltet. (Gleichzeitig behält das schnell durch die erweiterten Gefäße strömende Blut seinen arteriellen Charakter.) Aber auch im histaminisierten Körperteil lassen sich noch Schwankungen des Blutgehaltes nachweisen. Sie folgen im allgemeinen den Schwankungen des allgemeinen Blutdrucks.

So lassen sich bei der Durchleuchtung des histaminisierten Ohrläppchens, wenn die Blutfarbe, wie z. B. bei Sauerstoffatmung, völlig konstant bleibt, Änderungen des Blutgehaltes nachweisen, die den Blutdruckwellen erster, zweiter und dritter Ordnung entsprechen (Matthes und Hauss[2]). Will man geringe Schwankungen der Blutfarbe, z. B. Sauerstoffsättigung, richtig deuten, so ist es daher unbedingt notwendig, neben der Durchleuchtungskurve des Ohres ein Plethysmogramm aufzuzeichnen. Dies ist in den Arbeiten von Matthes und Mitarbeitern[1, 3, 4] auch stets geschehen. Das Mitregistrieren eines Plethysmogramms bedeutet aber

[1] Matthes: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 688 (1935). — [2] Matthes u. Hauss: Klin. Wschr. **17**, 1211 (1938). — [3] Matthes: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 631 (1936). — [4] Matthes: Erg. inn. Med. **53** (1937).

eine nicht unerhebliche Erschwerung der Registrierung der Blutfarbe bzw. der Sauerstoffsättigung. Es ist nicht immer einfach, ein derartiges Flüssigkeitssystem völlig dicht zu erhalten. Außerdem sind Plethysmogrammkurve und Durchleuchtungskurve nicht exakt quantitativ vergleichbar, da das Flüssigkeitsplethysmogramm die Änderungen des Blutgehaltes in einem linearen Maßstabe wiedergibt, während die Durchleuchtungskurve das gleiche in logarithmischem Maßstabe aufzeichnet. Wenn auch dieser Unterschied praktisch nicht sehr ins Gewicht fällt, da die Schwankungen des Galvanometerausschlages stets sehr klein im Vergleich zu dem Gesamtausschlag sind, so besteht doch immer eine Unsicherheit, wenn die Durchleuchtungskurve, die nebeneinander Farbänderungen des Blutes und Schwankungen des Blutgehaltes wiedergibt, auf Grund des gleichzeitig registrierten Plethysmogramms quantitativ auf reine Farbänderung korrigiert werden soll.

Es wäre daher als eine erhebliche Verbesserung und Vereinfachung der Methode anzusehen, wenn es gelänge, an Stelle des Plethysmogramms eine rein optische Registrierung des Blutgehaltes mit Photozelle durchzuführen. Dazu wäre die Durchleuchtung mit einem Licht notwendig, das bei allen Schichtdicken des Blutes keinen Unterschied in der Lichtdurchlässigkeit zwischen reduziertem und sauerstoffgesättigtem Blut zeigt. Durchleuchtung des Ohres mit einem derartigen Licht würde nicht die Schwankungen der Sauerstoffsättigung, wohl aber die Schwankungen des Blutgehaltes wiedergeben; es würde ein reines „lichtelektrisches Plethysmogramm" aufgezeichnet werden. Unsere Arbeiten über die Lichtdurchlässigkeit des Blutes im ultraroten Spektralgebiet (Matthes und Gross[5]) haben uns ein solches Licht finden lassen. Registriert man die Lichtdurchlässigkeit von menschlichem Blut, das mit einer gewöhnlichen elektrischen Lampe durchleuchtet wird, mit einer ultrarotempfindlichen Photozelle der Firma Pressler in Leipzig (Type G Sp. I E) unter Vorschalten eines Agfa Ultrarotfilters Nr. 83, so findet man nahezu völlige Gleichheit der Lichtextinktion von reduziertem und oxydiertem Blut. Wir haben dies bei der Untersuchung von 15 verschiedenen Proben menschlichen Blutes in verschiedenen Schichtdicken bestätigen können.

Untersucht man in der gleichen Anordnung Hundeblut, Kalbsblut oder Hammelblut, so findet man das reduzierte Blut stets durchsichtiger als das mit Sauerstoff gesättigte Blut (Matthes und Gross[5, 6]). Das abweichende Verhalten des Menschenblutes läßt sich nur an nichthämolysiertem Menschenblut nachweisen, hämolysiertes Menschenblut ist ebenfalls in reduziertem Zustand für ultrarotes Licht durchsichtiger als sauerstoffgesättigtes hämolysiertes Blut.

Durchleuchtet man eine menschliche Ohrmuschel mit dem Licht einer wassergekühlten 6 Volt 25 Watt Osramlampe, so kann man das

[5] Matthes u. Gross: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 369 (1939). — [6] Matthes u. Gross: Ebenda **191**, 381, 1939.

durch die Ohrmuschel fallende Licht gleichzeitig auf beide Photozellen wirken lassen. (Rotempfindliche Zelle = Sperrschichtphotozelle von Dr. Br. Lange oder S. A. F. Nürnberg, ultrarotempfindliche Zelle = edelgasgefüllte Zelle der Firma Pressler, Leipzig + Ultrarotfilter s. oben.) Die Ultrarotzelle schreibt dann, da sie völlig unempfindlich gegen die bei Schwankungen der Sauerstoffsättigung auftretenden Änderungen der Blutfarbe ist, ein reines Plethysmogramm des Ohres, während die rotempfindliche Zelle die Änderungen der Blutfarbe neben den Schwankungen des Blutgehaltes wiedergibt. Man kann neben den beiden Durchleuchtungskurven noch ein echtes Plethysmogramm der Ohrmuschel (am besten am

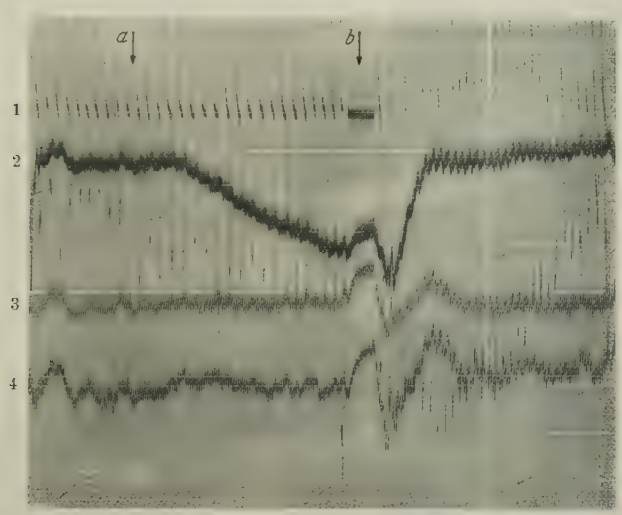


Abb. 1. 1. Atmung; 2. Lichtabsorption des histaminisierten Ohres, registriert mit rotempfindlicher Photozelle; 3. Das Gleiche, registriert mit ultrarotempfindlicher Photozelle; 4. Plethysmogramm des Ohrläppchens. Von a bis b Atmung eines Gemisches von 7 % O_2 und 93 % N_2, am Ende der Gemischatmung kurze Atempause. Man beachte die völlige Übereinstimmung zwischen Plethysmogramm und ultraroter Durchleuchtungskurve. Die Rotlichtkurve wurde mit einem Galvanometer längerer Schwingungsdauer aufgezeichnet, daher sind die herzsynchronen Pulsationen in ihr von geringerer Amplitude als in den beiden anderen Kurven.

anderen Ohr) aufzeichnen. Man kann sich dann leicht davon überzeugen, daß das echte Plethysmogramm und die Ultrarotdurchleuchtungskurve in allen Einzelheiten übereinstimmen (Abb. 1). Das technisch schwierigere Plethysmogramm mit Flüssigkeitsübertragung kann also durch das viel einfacher zu handhabende lichtelektrische Plethysmogramm mit der Ultrarotzelle ersetzt werden.

Man könnte daran denken, die beiden Photozellen in Differentialschaltung auf das gleiche Galvanometer einwirken zu lassen, dadurch könnten eventuell die Schwankungen des Blutgehaltes des Ohres auf einfache Weise eliminiert werden. Dies ist auch leicht möglich, solange die Sauerstoffsättigung sich nicht stark ändert. Das Gleichgewicht zwischen beiden

gegeneinandergeschalteten Photozellen gilt verständlicherweise nur für einen bestimmten Wert der Sauerstoffsättigung. Ändert sich die Lichtdurchlässigkeit des Blutes für die Rotzelle, so erhält die eine oder die andere Zelle das Übergewicht und es treten wieder herzsynchrone Pulsationen und andere durch Schwankungen des Blutgehaltes der Ohrmuschel bedingte Erscheinungen auf. Wir ziehen es daher vor, den Photostrom jeder Zelle einzeln zu registrieren.

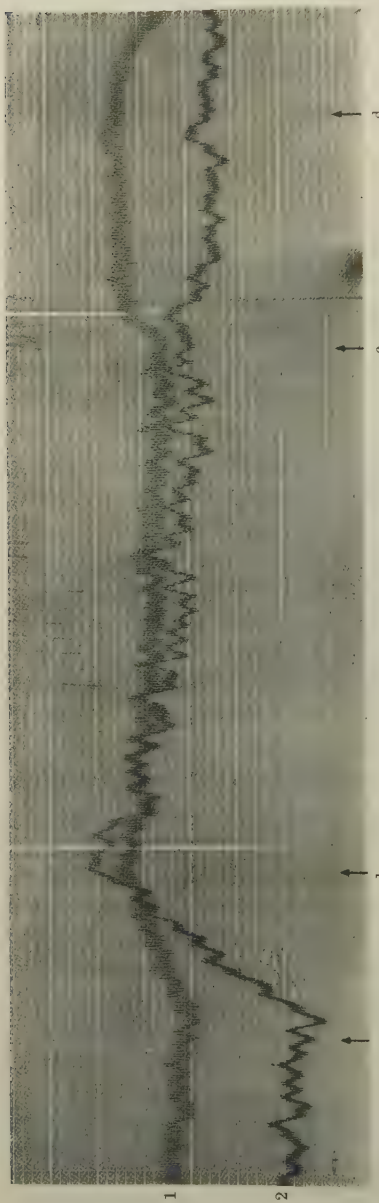


Abb. 2. Kohlenoxydatmung beim Menschen (Selbstversuch). 1. Durchleuchtungskurve des histaminisierten Ohres, registriert mit rotempfindlicher Photozelle; 2. Das Gleiche, registriert mit ultrarotempfindlicher Photozelle. Von a bis b Atmung von 200 ccm CO in 5 Litern Luft, von c bis d Sauerstoffatmung.

Die Registrierung der Lichtdurchlässigkeit des durchbluteten Ohrläppchens in zwei verschiedenen Spektralbezirken ermöglicht es auch, Farbänderungen des Blutes, die nicht allein auf Änderungen der Sauerstoffsättigung beruhen, richtig wiederzugeben und richtig zu deuten. So kann man den Verlauf einer Kohlenoxydvergiftung beim Menschen fortlaufend registrieren. Kohlenoxydhaltiges Blut ist wie beim Tier so auch beim Menschen besonders im ultraroten Licht sehr viel durchsichtiger als sauerstoffgesättigtes und reduziertes Blut (Matthes und Gross[7]). Auch im roten Licht ist das kohlenoxydgesättigte Blut etwas durchsichtiger als das mit Sauerstoff gesättigte. Abb. 2 zeigt den Verlauf einer sehr leichten Kohlenoxydvergiftung beim Menschen (Selbstversuch). Man sieht wie die Lichtdurchlässigkeit des Blutes im ultraroten Licht, weniger auch die im roten Licht, sofort nach Beginn der CO-Atmung zuzunehmen beginnt. Die Zunahme der Licht-

[7] Matthes u. Gross: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 291 (1938).

durchlässigkeit hält bis zum Ende der CO-Atmung an. Nach Absetzen des CO fällt die Lichtdurchlässigkeit zunächst rasch ab, erreicht aber bald ein fast konstantes Niveau. Dies entspricht dem Zeitpunkt, in dem das COHb annähernd gleichmäßig auf die ganze zirkulierende Blutmenge verteilt ist. Der Gehalt des Blutes an COHb zu diesem Zeitpunkt kann durch eine Venenpunktion ermittelt werden; dadurch ist eine Eichung der Kurve möglich.

Bei der Umsetzung der Atmung auf reinen Sauerstoff sehen wir die Rotlichtkurve in gewohnter Weise zunehmen, die Ultrarotkurve zeigt etwas später eine deutliche Abnahme. Diese Abnahme ist nicht einfach Ausdruck der Zunahme der O_2-Sättigung des arteriellen Blutes, denn die Ultrarotkurve ist nach dem oben Gesagten gegen Änderungen der Sauerstoffsättigung des Blutes völlig unempfindlich. Es muß sich um eine wirkliche Abnahme des Gehaltes des arteriellen Blutes an Kohlenoxydhämoglobin in Folge der Sauerstoffatmung handeln.

Der Verlauf einer Kohlenoxydvergiftung beim Menschen entspricht in allen Einzelheiten dem, was wir in Tierexperimenten sehen können, wie der Vergleich von Abb. 2 dieser Arbeit mit Abb. 1 der entsprechenden Arbeit von Matthes und Gross[7] zeigt. Will man den Blutgehalt des Ohres während der Kohlenoxydatmung genau kontrollieren, so muß neben der beiden in Abb. 2 wiedergegebenen Durchleuchtungskurven ein echtes Übertragungsplethysmogramm registriert werden, da die Ultrarotlichtkurve ja in diesem Falle auch Änderungen der Blutfarbe wiedergibt. Wir haben uns in einigen Versuchen überzeugt, das bei ruhiger Atmung niedriger Konzentrationen von CO der Blutgehalt des Ohres sich nicht ändert.

Die Registrierung eines Übertragungsplethysmogramms neben den Durchleuchtungskurven der Ohrmuschel ist besonders dann unentbehrlich, wenn die Wirkung methämoglobinbildender Gifte am Menschen untersucht werden soll. Wir haben mit Inhalation von Amylnitrit einige Versuche angestellt, über die in einer folgenden Arbeit berichtet werden wird[8]. Es kommt dabei zu sehr starken Schwankungen des Blutdrucks, die zu Änderungen des Blutgehaltes des Ohres führen. Wir konnten durch gleichzeitige Registrierung von Plethysmogramm, Rotlichtkurve und Ultrarotlichtkurve der menschlichen Ohrmuschel nachweisen, daß bei therapeutischen Dosen von Amylnitrit nur Schwankungen des Blutdrucks, aber keine nachweisbare Methämoglobinbildung stattfindet. Bei Inhalationen von großen Mengen Amylnitrit, die die Versuchsperson in einen kollapsähnlichen Zustand brachte, gelang es dagegen, das Auftreten von Methämoglobin im Blute einwandfrei nachzuweisen.

Zusammenfassung.

Bei der Registrierung der Sauerstoffsättigung des menschlichen arteriellen Blutes durch Aufzeichnung der Lichtabsorption des histamini-

[8] Matthes u. Gross: Im Erscheinen. Naunyn-Schmiedebergs Arch.

sierten menschlichen Ohrläppchens ist es notwendig, zur Kontrolle der Schwankungen des Blutgehaltes des durchleuchteten Organs neben der Durchleuchtungskurve ein Plethysmogramm dieses Organs aufzuzeichnen. Es ist möglich, dieses Plethysmogramm, dessen Registrierung oft technisch nicht leicht ist, durch eine Durchleuchtungskurve des Ohres mit ultrarotem Licht zu ersetzen, da im ultraroten Licht zwischen sauerstoffgesättigtem und reduziertem Blute kein Farbunterschied besteht. Dies bedeutet eine erhebliche Vereinfachung der Methode der Registrierung der Sauerstoffsättigung beim Menschen.

Die Aufzeichnung der Lichtabsorption des menschlichen Blutes in gleichzeitig zwei verschiedenen Spektralbezirken ermöglicht es auch den Gehalt des arteriellen Blutes an Kohlenoxydhämoglobin zu registrieren. Es kann so der Verlauf einer CO-Vergiftung beim Menschen fortlaufend dargestellt werden.

Aus der Physiologisch-Chemischen Abteilung der Hansischen Universität, Hamburg.

Über den Porphyringehalt des Blutes unter besonderer Berücksichtigung der Einwirkung von Hämatoporphyrin.

Von

O. Schumm.

(Nach gemeinsam mit G. Knop durchgeführten Untersuchungen.)

Mit 26 Abbildungen auf 3 Tafeln.

(Eingegangen am 24. August 1938.)

Das sog. Hämatoporphyrin-Nencki ist erstmalig von Nencki und Sieber[1] nach einem von ihnen eingeführten Verfahren künstlich aus Hämoglobin dargestellt worden. Es ist zwar kein natürlicher Bestandteil des menschlichen Organismus, hat aber wegen seiner eigenartigen photodynamischen Wirkung seit langem besondere Beachtung gefunden. In seinem chemischen Bau ist es dem im Blutfarbstoffmolekül in chemischer Bindung vorhandenen Protoporphyrin* sehr ähnlich; der Unterschied beschränkt sich auf den verschiedenen Bau der Seitenketten zweier Pyrrolkerne. Vor einem Jahrzehnt von J. Hühnerfeld[2] in die Behandlung von Depressionszuständen eingeführt, ist das Hämatoporphyrin von ihm und anderen Untersuchern mit bemerkenswertem Erfolge namentlich in der Behandlung des endogenen manisch-depressiven Irreseins angewandt worden. - Über sein biologisches Verhalten war derzeit im wesentlichen nur bekannt, daß es beim Menschen nach Überladung des Blutes mit großen Mengen und daran angeschlossener Bestrahlung dieselben Photosensibilisierungserscheinungen hervorruft[3] wie sie bereits von W. Hausmann[4] bei weißen Mäusen beobachtet waren. Nach Grzeschiuchna[5] ist die photodynamische Wirksamkeit des Hämatoporphyrins bei weißen Mäusen etwa 20mal so stark wie die des Protoporphyrins.

---

* Protoporphyrin = Hämaterinsäure = Kämmerers Porphyrin.

[1] Nencki u. Sieber: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **24**, 444 (1888). — [2] Hühnerfeld, J.: Med. Welt **1929**, Nr. 43; **1930**, Nr. 34; **1931**, Nr. 17; Psychiatr.-Neurolog. Wschr. **1931**, Nr. 15; **1936**, S. 21 (dort Schrifttum); Z. Neurolog. **154**, 4—5 (dort Schrifttum); vgl. auch Max Müller: Prognose und Therapie der Geisteskrankheiten, S. 97. Leipzig, G. Thieme, 1936. — [3] Meyer-Betz, Fr.: Dtsch. Arch. f. klin. Med. **112**, 476 (1913). — [4] Hausmann, W.: Grundzüge der Lichtbiologie und Lichtpathologie. Berlin, Urban & Schwarzenberg, 1923. — [5] Grzeschiuchna, B.: Zur Kenntnis der natürlichen Porphyrine. Diss. Hamburg, 1930.

Nencki und Sieber fanden in einem Versuch nach peroraler Zufuhr von 0,7 g Hämatoporphyrin bei einem 13 kg schweren Hunde „kein Hämatoporphyrin im Harn, dagegen etwas unverändertes Hämatoporphyrin in den Faeces", bei Kaninchen nach subcutaner Injektion großer Mengen Hämatoporphyrin Übergang in den Harn.

Hutschenreuter[6] fand, daß das Hämatoporphyrin bei Ratten nach peroraler Zufuhr in den Faeces nachweisbar ist und nach intramuskulärer Anwendung sogar größtenteils wieder in den Faeces ausgeschieden wird. Bei intramuskulärer Zufuhr großer Mengen von Hämatoporphyrin konnte Hutschenreuter es noch 24 Stunden nach der Injektion im Blute nachweisen. Gildemeister[7] beobachtete, daß Kaninchen, wenn sie im Dunkeln gehalten werden, selbst nach intravenöser Injektion verhältnismäßig hoher Dosen von Hämatoporphyrin keine Vergiftungserscheinungen zu zeigen brauchen. Bei einem von ihm beschriebenen Versuch betrug der Porphyringehalt des Serums nach der intravenösen Injektion von 10 mg Hämatoporphyrin vorübergehend 2 mg%.

Daß intravenös injiziertes Hämatoporphyrin bei Kaninchen sehr schnell mit der Galle wieder ausgeschieden wird, wurde kürzlich durch quantitative Bestimmungen von A. Jakob[8] bewiesen. Er injizierte die verhältnismäßig große Menge von etwa 2 mg Hämatoporphyrin pro kg Körpergewicht und fand in der innerhalb von 6, 13 bzw. 20 Stunden aufgefangenen Galle in jedem Falle fast die Gesamtmenge Hämatoporphyrin wieder.

Da für die Beurteilung der Resorptionsgröße des Hämatoporphyrins keine Unterlagen vorhanden waren, hat W. Häcker[9] auf meine Veranlassung bei Kranken, die teils peroral, teils intramuskulär Hämatoporphyrin erhalten hatten, sowohl die Blutkörperchen als auch das Serum auf die Höhe des Porphyringehalts untersucht. Die von ihm beobachtete Konzentration an „Gesamtporphyrin" schwankte bei Blutserum zwischen 0 und 17,5 γ%, bei den Blutkörperchen zwischen einer nur durch die Fluoreszenzprobe nachgewiesenen allergeringsten Spur und 17 γ%.

Auf eine Trennung des Porphyrinauszuges in eine Protoporphyrin- und eine „Hämatoporphyrin-Fraktion" ist in den meisten Fällen verzichtet worden. In einigen Fällen hat Häcker den Porphyrinauszug aber zur Abtrennung von Protoporphyrin mit Chloroform ausgeschüttelt und in der verbliebenen Hämatoporphyrin-Fraktion geringe Spuren eines Porphyrins, dessen spektrometrische Werte auf Hämatoporphyrin passen, auffinden können. Häcker schätzte den Gehalt in 2 Fällen zu etwa 2 γ%, einmal zu 3 γ% und einmal (bei einer Patientin, die in 14 Tagen insgesamt 32 mg Hämatoporphyrin intramuskulär erhalten hatte) zu 17 γ%. Die in einigen Fällen ausgeführte nähere Prüfung der aus den Blutkörperchen gewonnenen Porphyrinauszüge ergab, daß ihr Porphyringehalt mindestens weit überwiegend aus Protoporphyrin bestand.

In zwei besonderen Versuchen an normalem Serum, dem auf 30 ccm einma 23 γ, einmal 10 γ Hämatoporphyrin zugesetzt waren, ergab die Aufarbeitung einen

---

[6] Hutschenreuter, R.: H. S. **222**, 161 (1933). — [7] Gildemeister, H.: Z. f. d. ges. exper. Med. **102**, 58 (1937). — [8] Jakob, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 272 (1938). — [9] Häcker, W.: Ebenda **184**, 723 (1937).

Porphyringehalt von 25 bzw. 13 γ, wodurch bewiesen ist, daß diese so sehr geringen Hämatoporphyrinmengen aus Serum noch angenähert quantitativ wiedergefunden werden können. Häcker beobachtete ferner, daß, wenn Blut 15 γ Hämatoporphyrin zugesetzt und nach 2tägigem Stehen an dessen Serum die Porphyrinbestimmung vorgenommen wurde, das Porphyrin jedenfalls noch qualitativ nachweisbar war. Aus diesem und einigen ähnlichen Versuchen konnte Häcker folgern, daß dem Blute zugesetztes Hämatoporphyrin von ihm mindestens nicht schnell zersetzt werde. Ob sich ein Teil des Hämatoporphyrins irgendwie verändert hatte, ist nicht geprüft worden. — Das von Häcker angewandte Untersuchungsverfahren besteht in der chemischen Aufarbeitung der Blutkörperchen bzw. des Serums nach dem Extraktionsverfahren mit Eisessig-Essigester oder Eisessig-Äther und der spektrographischen Untersuchung des gewonnenen Porphyrinauszuges. Hierbei bediente Häcker sich der vom Verfasser näher beschriebenen Arbeitsweise*. Er benutzte zu den spektrographischen Aufnahmen teils den vom Verfasser beschriebenen Gitterspektrographen, teils einen von C. Zeiss, Jena, hergestellten Quarzspektrographen.

Häckers Versuche lassen erkennen, daß das Hämatoporphyrin bei Zufuhr in den vorgeschriebenen Dosen jedenfalls nur in sehr geringen Mengen im Blute kreist. Er berichtet ferner, daß sich unter den 20, teils peroral, teils intramuskulär mit Hämatoporphyrin behandelten Fällen bei keinem irgendwelche nachteiligen Photosensibilisierungserscheinungen wahrnehmen ließen, und bestätigte damit die in dieser Hinsicht schon bisher auf Grund klinischer Beobachtungen angenommene Unschädlichkeit der nach Hühnerfelds Erfahrungen festgesetzten Dosierung des Hämatoporphyrins.

Wie oben erwähnt wurde, hat Häcker sich im wesentlichen auf die Bestimmung des Gesamtporphyringehalts beschränkt und nur in wenigen Fällen versucht, ihn in den „Protoporphyrin- und Hämatoporphyrin-Anteil" zu zerlegen. Infolgedessen konnten seine Versuchsergebnisse noch kein genaueres Bild davon geben, welcher Anteil des von ihm bestimmten Gesamtporphyringehalts im Durchschnitt auf Protoporphyrin und welcher auf das Hämatoporphyrin entfällt. Die Klarstellung dieser Verhältnisse ist aber um so mehr erwünscht, da aus neueren klinisch-chemischen Beobachtungen hervorzugehen scheint, daß das Hämatoporphyrin in noch ungeklärter Weise in verschiedene Gebiete des Stoffwechsels eingreift, unter anderem auch den Mineralstoffgehalt des Blutes beeinflußt**. Wir haben deshalb in einer neuen Untersuchung eine noch genauere Bestimmung des absoluten Hämatoporphyringehalts sowie die des Verhältnisses von Hämatoporphyrin zu Protoporphyrin angestrebt und außerdem geprüft, wie groß die Unterschiede in der Hämatoporphyrin-Konzentration des Blutes sind, je nachdem das Hämatoporphyrin peroral oder intramuskulär zugeführt wird.

---

* Schumm, O.: Spektrochemische Analyse natürlicher organischer Farbstoffe, S. 251 u. f. Jena, G. Fischer, 1927.

** Wegen einer außerhalb des Organismus von K. Hinsberg und R. Ammon beobachteten Hemmung der Autoxydation von Leinölsäure durch Porphyrine vgl. man H. S. **246**, 139 (1936). Vergl. auch die neuen Versuche von Hinsberg u. Merten, Biochem. Z. **1938**, Bd. 299, S. 137. (Anm. b. d. Korrektur.)

Vor Inangriffnahme der quantitativen Bestimmung am Blute der mit Hämatoporphyrin behandelten Fälle haben wir die Genauigkeit und Zuverlässigkeit des von uns gewählten, unten näher beschriebenen Untersuchungsverfahrens folgendermaßen sowohl an reinen Porphyrinlösungen als auch an Blut geprüft, dem Porphyrin zugesetzt war:

1. Lösungen von reinem Hämatoporphyrin bzw. Protoporphyrin in Eisessig wurden mit der mehrfachen Menge Essigester gemischt und in der unten für die Blutuntersuchung beschriebenen Weise mit Wasser gewaschen, mit Salzsäure ausgezogen und der Porphyringehalt der Salzsäure spektrographisch bestimmt. Dabei haben wir die eingesetzten Mengen von Protoporphyrin bzw. Hämatoporphyrin angenähert quantitativ wiedergefunden.

2. Lösungen von Protoporphyrin in 5%iger Salzsäure wurden erschöpfend (5—12mal) mit je dem gleichen Volumen Chloroform ausgeschüttelt, die Chloroformauszüge gemischt, gewaschen und destilliert. Von dem in Mengen von 10—60 γ eingesetzten Protoporphyrin wurden im Chloroformauszug ungefähr 97% wiedergewonnen. Wurde statt des besonders gereinigten Chloroforms gewöhnliches Handelschloroform benutzt, so traten mehrfach erheblichere Verluste ein, die durch Verunreinigungen des Chloroforms bedingt zu sein schienen.

3. Zu normalem menschlichen Blute wurde Hämatoporphyrin in Mengen von 10 bzw. 5 γ auf 100 ccm Blut zugesetzt und das Blut dann in der unten für Blut beschriebenen Weise verarbeitet. Selbst diese winzigen Mengen von Hämatoporphyrin konnten angenähert wiedergefunden werden.

In unserer Hauptversuchsreihe (vgl. Tabelle 1, S. 538/39) haben wir die einzelnen Blutmengen ohne vorherige Trennung in Körperchen und Serum dem Extraktionsverfahren mit Eisessig und Essigester unterworfen. Dabei wird der Gesamtgehalt an Porphyrin gewonnen, gleichgültig, ob nur Protoporphyrin oder auch Hämatoporphyrin oder gar noch ein anderes „ätherlösliches" Porphyrin vorhanden ist. — Angesichts der stark schwankenden Angaben im Schrifttum über den Gehalt menschlichen Blutes an Protoporphyrin* erschien es geboten, erneut zu prüfen, ob u. U. durch die bei der Verarbeitung anzuwendenden Chemikalien Protoporphyrin künstlich aus den bekannten regelmäßig oder gelegentlich im Blute vorhandenen Grundkörpern gebildet werde und dadurch stärkere Schwankungen im Gehalt des Blutes an Protoporphyrin vorgetäuscht werden können als tatsächlich auftreten. Mit dieser Frage hat sich zwar Hijmans van den Bergh bereits beschäftigt, indem er an reinem kristallisierten Oxyhämoglobin prüfte, ob daraus durch die Eisessig-Essigester-Mischung Protoporphyrin gebildet werde. Diese Gefahr liegt in der Tat nicht vor; denn nach den von uns oft bestätigten Beobachtungen Hoppe-Seylers wird das Eisen durch Säuren aus Hämochromogen** zwar leicht ab-

* Vgl. Hijmans van den Bergh: Klin. Wschr. **1932**, Nr. 37, S. 1534; Dtsch. med. Wschr. **1928**, Nr. 36, S. 1492; K. Lageder: Klin. Wschr. **1936**, Nr. 9, S. 296.

** Man vgl. Schumm, O.: H. S. **132**, 36 (1924); **139**, 219 (1924); A. Papendieck u. K. Bonath: H. S. **144**, 60 (1925).

gespalten, nicht aber aus Oxyhämoglobin. Ähnlich wie Hämochromogen verhalten sich aber sauerstofffreies Hämoglobin und Schwefelhämoglobin*. Bei der Überprüfung der Eignung des Verfahrens von Hijmans van den Bergh mußte demnach besonders in Betracht gezogen werden, ob die bekannte Sauerstoffzehrung des Blutes die nachträgliche Eisenabspaltung, d. i. Bildung von Protoporphyrin durch das stark saure Extraktionsmittel begünstigen könne. Um in dieser Hinsicht sicher zu gehen, haben wir vor der weiteren Verarbeitung des Blutes für seine gründliche Durchsetzung mit Sauerstoff gesorgt. Bei dieser Arbeitsweise** hat sich uns kein Hinweis darauf ergeben, daß unter Einwirkung des sauren Extraktionsmittels aus dem Hämoglobingehalt des Blutes Protoporphyrin künstlich gebildet werde.

Besondere Sorgfalt haben wir ferner auf die mögliche Vermeidung von Porphyrinverlusten verwandt. In dieser Hinsicht wirken erschwerend:

1. Die unvermeidliche Verwendung großer Mengen des Extraktionsmittels (Eisessig-Essigester) und die notwendige Reinigung des Auszuges durch Waschen mit Wasser.

2. Die Lichtempfindlichkeit der hier in Betracht kommenden höchst schwachen Porphyrinlösungen und die Leichtigkeit, mit der sie u. U. schon durch einen hohen Salzsäuregehalt allmählich Veränderungen erleiden***.

3. Die leicht eintretende Verbindung von Porphyrinen mit Kupfer und anderen Metallen zu Metallkomplexverbindungen, die bei dem vorgeschriebenen Arbeitsgange nicht mitgewonnen werden. Deshalb müssen die anzuwendenden Chemikalien wie Eisessig, Essigester, Chloroform usw., auch das destillierte Wasser, zur Entfernung von Metallspuren kurz vor der Benutzung durch Destillation aus Glas- oder Quarzdestillationsgeräten gereinigt werden.

Für die Extraktion des Gesamtporphyrins hat sich uns die von Hijmans v. d. Bergh[10] angewandte Methode als brauchbar erwiesen. In besonderen Versuchen haben wir uns weiter davon überzeugt, daß sich ohne jeden Nachteil Zeit einsparen läßt, indem man die Mischung aus dem Extraktionsmittel statt der üblichen 2 Stunden nur $^1/_2$ Stunde auf der Maschine schüttelt. Wir verwenden für jede Analyse 100 ccm „Schüttelblut“ †, das wir zur vollständigen Sättigung mit Sauerstoff in einem großen Porzellanmörser mit best gereinigtem Quarzpulver

---

* List, P.: H. S. **135**, 95 (1924).

** Vgl. die Vorschrift auf S. 534.

*** Die Lichtempfindlichkeit wird leicht unterschätzt. Bezüglich des aus Hämoglobin chemisch dargestellten Protoporphyrins (damals als α-Hämatoporphyroidin bezeichnet) hat Verfasser bereits 1924 nähere Angaben über die Zersetzlichkeit der Lösungen mitgeteilt [H. S. **139**, 219 (1924)]. Auch K. Lageder betont die Zersetzlichkeit.

† „Schüttelblut“ = durch Schütteln mit Glasperlen defibriniertes Blut.

etwa $^1/_4$ Stunde aufs feinste vermahlen, dann im Mörser unter allmählichem Zusatz mit der Eisessig-Essigester-Mischung verrühren und in die Schüttelflasche bringen.

Wegen der oben unter „2." und „3" näher erörterten Empfindlichkeit höchst schwacher Porphyrinlösungen muß jede quantitative Untersuchung auf Porphyringehalt (Gewinnung des Porphyrinauszuges aus dem Blute, Fraktionierung und spektrographische Bestimmung) soweit irgend möglich in einem Zuge durchgeführt und in Räumen vorgenommen werden, die gegen Tageslicht ausreichend abgedunkelt sind. Da das Protoporphyrin als physiologischer Blutbestandteil zu gelten hat, seine Lösungen in starker wässeriger Salzsäure aber leicht teilweise in ein Umwandlungsprodukt übergehen können, das ein abweichendes lichtabsorptives Verhalten und andere Löslichkeitsverhältnisse hat, so muß man auch in Rücksicht auf die quantitative Bestimmung des ursprünglichen Hämatoporphyringehalts mit dieser Fehlerquelle rechnen und darauf achten, daß das vorhandene Protoporphyrin der Einwirkung stärkerer Salzsäure nur möglichst kurze Zeit ausgesetzt bleibt. Deswegen bewirken wir bei dem zunächst als 25%ige Salzsäurelösung gewonnenen Gesamt-Porphyrinauszug des Blutes unverzüglich eine Herabsetzung des HCl-Gehalts bis auf etwa 10%, indem wir den Auszug in die erforderliche Menge Wasser hineingeben. Auf die genannte Fehlerquelle ist in jedem Falle Bedacht zu nehmen, gleichgültig, ob man an Blut nur den Gehalt an Protoporphyrin bestimmen will, oder auch den an anderem Porphyrin, z. B. Hämatoporphyrin. — Bei unserem Trennungsverfahren wird der Protoporphyrinanteil als Chloroformlösung gewonnen; daraus wird das Protoporphyrin in Salzsäure übergeführt. Um bei dem Verdampfen der höchst schwachen Protoporphyrin-Chloroformlösung Verluste durch störende Umwandlungen des Protoporphyrins möglichst zu vermeiden, haben wir aus der Chloroformlösung nach Zusatz von Salzsäure das Chloroform bei einer Temperatur von höchstens 25° C unter Schutz gegen Licht im Vakuum abdestilliert. Die stete Befolgung all der angegebenen Vorsichtsmaßregeln bedeutet eine weitere Verfeinerung der in der ersten Mitteilung über diesen Gegenstand angewandten Technik.

Für die unten beschriebenen Untersuchungen an menschlichem Blute benutzten wir demnach folgende

Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Gehalts an Protoporphyrin und Hämatoporphyrin.

100 ccm Blut werden mit reinstem Quarzpulver bei gleichzeitigem Durchleiten eines Luftstromes fein vermahlen, unter allmählichem Zusatz mit 300 ccm Eisessig-Essigester-Mischung (1 : 3) fein verrieben, $^1/_2$ Stunde geschüttelt, nach dem Absitzen die Flüssigkeit klar abgegossen, der Bodensatz dreimal mit je 100 ccm Eisessig-Essigester-Mischung unter Absitzenlassen und Abgießen der klaren Flüssigkeit nachgewaschen, die vereinigten Auszüge mit Essigester auf 600 ccm aufgefüllt, viermal (unter jeweiligem Ersatz des Volumenverlustes durch Essigester) mit je 300 ccm Wasser im Scheidetrichter gewaschen, danach filtriert und 7- bis 10mal mit je 2 ccm 25%iger Salzsaure ausgeschüttelt, bis alles Porphyrin ausgezogen ist (negative Fluoreszenzprobe!). Die einzelnen Salzsäureauszüge werden sogleich in einen Zylinder hinein abgelassen, der

15 ccm Wasser enthält, zuletzt der Inhalt des Zylinders mit der erforderlichen Menge Wasser und 25%iger Salzsäure auf 50 ccm aufgefüllt und 2- bis 3mal durch ein doppeltes Filter („Blauband 589" von Schleicher & Schüll) filtriert. Diese Salzsäurelösung enthält das Gesamtporphyrin. Ihr Salzsäuregehalt wird bestimmt und danach der Gehalt der Lösung an Gesamtporphyrin festgestellt. Falls kein Hämatoporphyrin vorhanden ist, wird der ermittelte Gehalt an Gesamtporphyrin auf Protoporphyrin bezogen.

Zur Abtrennung des Protoporphyrins wird die gemessene Menge Filtrat (30, 35 oder 40 ccm) 4- bis 6mal mit je dem gleichen Volumen Chloroform* ausgeschüttelt (bis zur negativen Fluoreszenzprobe); das etwa vorhandene Hämatoporphyrin bleibt in der wässerigen Salzsäure. Falls Hämatoporphyrin vorhanden ist, bestimmt man seine Menge und zieht sie von dem zuvor ermittelten Gehalt an Gesamtporphyrin ab; der Rest ist Protoporphyrin. Die vereinigten Chloroformauszüge werden in einen Zylinder hineinfiltriert, der 40 ccm 10%ige Salzsäure enthält, die gesamte Flüssigkeit in einen Vakuumdestillationskolben gefüllt, dann der Zylinder zunächst mit Chloroform, danach mit wenigen ccm Salzsäure nachgespült. Nunmehr wird das Chloroform schnell bei einer Temperatur bis zu 25° C im Vakuum abdestilliert**, der Kolbeninhalt in einen Meßzylinder gegossen, der Kolben mit Wasser nachgespült und die Flüssigkeit im Zylinder bis auf das Anfangsvolumen des ursprünglichen salzsauren Porphyrinauszuges aufgefüllt. — Den Gehalt an chloroformlöslichem Porphyrin (= Protoporphyrin) haben wir in mehreren Fällen durch spektrographische Untersuchung auch noch unmittelbar bestimmt.

Die spektrographische Bestimmung des Gehalts an Hämatoporphyrin und Protoporphyrin wird in der Weise ausgeführt, daß die auf ein bestimmtes Volumen gebrachte Lösung des betreffenden Porphyrins unter ganz gleichen optischen Bedingungen zusammen mit einer ähnlich starken Bezugslösung von genau bekanntem Porphyringehalt bei abgestuften Schichtdicken spektrographisch aufgenommen wird. Durch vergleichende Ausmessung der Aufnahmen von Testlösung und Versuchs-

---

* Die Behandlung salzsaurer Porphyrinauszüge mit Chloroform zur Trennung in chloroformlösliche und chloroformunlösliche Anteile ist erstmalig auf meine Veranlassung von meinem Mitarbeiter A. Papendieck [H. S. **128**, 109 (1923); **133**, 97 (1924); **140**, 16 (1924)] bei der Prüfung von Faecesauszügen auf verschiedene Porphyrinfarbstoffe, von mir selbst bereits bei der ersten rein chemischen Gewinnung von Protoporphyrin [H. S. **132**, 34 (1924); **139**, 219 (1924)] (derzeit als α-Hämatoporphyroidin bezeichnet) aus Hämoglobin angewandt und später als Verfahren zur Trennung von Porphyrinen beschrieben (Spektrochemische Analyse, S. 151). Papendieck und Bonath bedienten sich der Extraktion mit Chloroform bei der rein chemischen Gewinnung von Protoporphyrin (= Hämaterinsäure) aus Hämin nach der von ihnen ausgearbeiteten Hydrazin-Eisessig-Methode [H. S. **134**, 158 (1924); **144**, 60 (1925); **150**, 261 (1925); **152**, 215 (1926)].

** Zur Vermeidung jeder Verunreinigung müssen Destillationskolben mit eingeschliffenem Destillationsrohr benutzt werden.

lösung läßt sich die Konzentration der Versuchslösung an Porphyrin mit einer für den vorliegenden Zweck ausreichenden Genauigkeit bestimmen*. Ihrer sehr geringen Konzentration wegen liefern die aus dem Blute erhaltenen Porphyrinlösungen nur noch den sog. Violettstreifen. Da diese Absorptionsbande nach unseren Feststellungen beim Protoporphyrin nicht nur eine etwas andere Lage** hat, sondern auch in der Stärke gegenüber dem Hämatoporphyrin etwas abweicht, so müssen zu vergleichenden Bestimmungen der Stärke der Absorption von Hämatoporphyrin-Aufnahmen Vergleichsaufnahmen (Bezugsspektrogramme) von Hämatoporphyrinlösungen bekannten Gehalts, für Protoporphyrin solche von Protoporphyrinlösungen gebraucht werden. Die Genauigkeit der Bestimmung wird geringer, wenn die zu prüfenden Lösungen Beimengungen eines anderen Porphyrins enthalten, z. B. wenn in der abgetrennten Porphyrinlösung aus einem Teil des Protoporphyrins nachträglich ein Umwandlungsprodukt entstanden sein sollte, das in der Art und Stärke seiner Violettabsorption etwas vom Protoporphyrin abweicht. Selbst bei Anwendung aller Vorsichtsmaßregeln wird sich die nachträgliche Veränderung wenigstens eines kleinen Anteils des ursprünglich vorhanden gewesenen Protoporphyringehalts kaum oder wenigstens nicht in allen Fällen vermeiden lassen; die Empfindlichkeit des Protoporphyrins in so schwachen Lösungen setzt bei langwierigen Untersuchungen der Genauigkeit seiner Bestimmung gewisse Grenzen.

Bei der Herstellung der Spektrogramme (d. i. der spektrographischen Aufnahmen) der Porphyrinlösungen befolgten wir die zum Teil bereits früher beschriebene Arbeitsmethode[14]. Um die zu spektrographierenden Lösungen bei der Aufnahme nur möglichst kurze Zeit einer Lichteinwirkung aussetzen zu müssen, haben wir die maßgebenden Aufnahmen mit dem nur sehr kurze Belichtungszeiten erfordernden Quarzspektrographen gemacht. Als Lichtquelle benutzten wir hierbei die bei C. Zeiss, Jena, erhältliche Quarzfenster-Wendellampe unter Einschaltung eines Filterglases aus Jenaer-Blauglas. — Die Lösungen befanden sich in besonders eingerichteten Baly-Röhren mit Quarzfenster. — Die photographischen Platten waren Silbereosin-Platten von Perutz. Für die außerdem mit dem Gitterspektrographen hergestellten Spektrogramme benutzten wir Perchromo-Platten. — Die Gehaltsbestimmung der Porphyrin-

* Nach unseren Erfahrungen ist die spektrographische Methode bei sachgemäßer Handhabung für die quantitative Bestimmung von Porphyrinmengen der hier in Betracht gezogenen Größenordnung durchaus geeignet. Gegenüber der Fluoreszenzmethode bietet sie u. a. den Vorteil, daß die Belegstücke (Spektrogramme) dauerhaft sind und eine verläßlichere photometrische Mengenschätzung erlauben. Die Empfindlichkeit der spektrographischen Untersuchung läßt sich beim Einhalten besonderer von uns neuerdings erprobten Versuchbedingungen soweit steigern, daß unter günstigen Bedingungen in salzsaurer Lösung noch ein Porphyringehalt von ungefähr 1 γ% ($= {}^1/_{1000}$ mg%) erfaßt werden kann.

** Vgl. Schumm, O.: Spektrochemische Analyse. Jena 1927.

lösung erfolgt durch Bestimmung des Stärkeverhältnisses der im Violett liegenden Absorptionsbande im Vergleich mit den Bezugsspektrogrammen. Sie wird von uns entweder unter schwacher Vergrößerung mit dem Meßmikroskop oder mit Hilfe des Projektionsapparates durch Projektion auf den Bildschirm an den Glasspektrogrammen selbst (nicht an den Abzügen!) vorgenommen.

Der Porphyringehalt menschlichen Blutes bei hämoglobinfreier Kost.

Untersuchungen über den Porphyringehalt normalen menschlichen Blutes sind mit einwandfreier Methodik an Blutserum erstmalig im hiesigen Institut von meinem Mitarbeiter A. Papendieck ausgeführt worden. Sie haben ergeben, daß bei der Verarbeitung kleinerer Mengen Blutserum (5—20 ccm) nach der üblichen Vorschrift unter physiologischen Verhältnissen in spektroskopisch oder spektrographisch nachweisbaren Mengen weder das Koproporphyrin noch ein anderes Porphyrin nachgewiesen werden kann*. Die danach von anderer Seite veröffentlichten gegenteiligen** Angaben haben auch in späteren Untersuchungen keine Bestätigung gefunden***. Andererseits ist erwiesen, daß bei tatsächlich vorhandenem Porphyringehalt noch recht geringe Mengen von Porphyrin, wenn nicht unmittelbar an dem mit dem mehrfachen Volumen 25%iger Salzsäure gemischten Blutserum, so doch entweder am Salzsäure-Alkoholauszug oder aber (bei ätherlöslichem Porphyrin) an der aus dem Essigsäure-Ätherauszug hergestellten wässerig-salzsauren Lösung spektrographisch (durch Darstellung der im Violett liegenden Absorptionsbande) aufgefunden werden können†.

Im Gegensatz zum normalen Blutserum enthält der frische Blutkörperchenbrei nach Hijmans v. d. Bergh[10] winzige Mengen von Porphyrin††, dem spektrochemischen Verhalten nach Protoporphyrin. Hijmans v. d. Berghs Befund ist mehrfach bestätigt[11] worden. Hinsichtlich der Konzentration an Protoporphyrin zeigen die Angaben der verschiedenen

---

* Papendieck, A.: H. S. **136**, 293 (1924); vgl. auch O. Schumm: H. S. **142**, 213 (1924).

** Fischer, H., u. W. Zerweck: H. S. **132**, 16, 17 (1924). Der dortige Ausspruch „Ganz auffallend ist der im Verhältnis zu normalen Seren geringe Gehalt an Porphyrin des Pat. Petry" ist wohl auf Beobachtungsfehler zurückzuführen.

*** Vgl. Hijmans van den Bergh: Klin. Wschr. **1933**, S. 586.

† Schumm, O.: H. S. **126**, 194 (1923); **132**, 70 (1924); „Spektrochemische Analyse", S. 165. 166, Jena 1927; W. Häcker: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 723 (1937).

†† Nach Watson und Clarke [Proc. of the Soc. exper. Biol. and Med. **36**, 65 (1937)] soll der Protoporphyringehalt größtenteils in den Reticulocyten enthalten sein.

[10] Hijmans van den Bergh, u. A. J. Hijman: Dtsch. med. Wschr. **1928**, Nr. 36.

[11] Hijmans van den Bergh u. Grotepass: Klin. Wschr. **1933**, S. 586; C. Angeleri u. E. Vigliani: Das Porphyrin der roten Blutkörperchen; K. Lageder: Untersuchungen über Porphyrinvermehrung in den Erythrocyten. Klin. Wschr. **15**, 296 (1936).

Tabelle 1.

Name	Diagnose	Diät	Behandlung	Untersuchungsmaterial	Gesamtporphyrin (berechnet als Protoporphyrin) γ %	Hämatoporphyrin γ %	Protoporphyrin γ %
Andrup	klimakterische Psychose	4 Tage fleisch- u. blutfreie Diät	kein Hp	Schüttelblut	19,8	negativ	19,8
		fleisch- und blutfreie Diät	etwa 90 mg Hp peroral	„	19	„	19
		„ „ „ „	4 · 1 ccm = 8 mg Hp intramusk.	„	15,5	7,5	ca. 8
Heidrich	Schizophrenie	4 Tage fleisch- u. blutfreie Diät	kein Hp	Schüttelblut	12	negativ	12
		fleisch- und blutfreie Diät	etwa 90 mg Hp peroral	„	12	„	12
		„ „ „ „	4 · 1 ccm = 8 mg Hp intramusk.	„	25	11	ca. 14
ter Haar	depressiv-paranoische Mischpsychose	4 Tage fleisch- u. blutfreie Diät	kein Hp	Schüttelblut	170	negativ	170
		fleisch- und blutfreie Diät	etwa 90 mg Hp peroral	„	170	„	170
		„ „ „ „	4 · 2 ccm = 16 mg Hp intramusk.	„	125	6	ca. 119
Heidmann	klimakterische Depression	4 Tage fleisch- u. blutfreie Diät	kein Hp	Schüttelblut	15	negativ	15
		fleisch- und blutfreie Diät	etwa 90 mg Hp peroral	„	12,5	„	12,5
		„ „ „ „	Wiederholung nach 4 täg. Diät	„	12,5	„	12,5
Giesker	depressiv gefärbte Psychose	4 Tage fleisch- u. blutfreie Diät	kein Hp	Schüttelblut	12,5	negativ	12,5
		fleisch- und blutfreie Diät	etwa 95 mg Hp peroral	„	12,5	„	12,5
		„ „ „ „	5 · 1 ccm = 10 mg Hp intramusk.	„	12,5	3	ca. 9,5
		„ „ „ „	weiter 7 · 1 ccm = 14 mg Hp intramusk.	„	15	6	„ 9
Kremer	Schizophrenie	4 Tage fleisch- u. blutfreie Diät	kein Hp	Schüttelblut	12,5	negativ	12,5
		fleisch- und blutfreie Diät	etwa 95 mg Hp peroral	„	17	unter 2,5	ca. 15
		„ „ „ „	5 · 2 ccm = 20 mg Hp intramusk.	„	9,4	6	„ 3,4
		„ „ „ „	weiter 7 · 2 ccm = 28 mg Hp intramusk.	„	12,5	8	„ 4,5
Berndmeier	Schizophrenie (oder Hysterie)	4 Tage fleisch- u. blutfreie Diät	kein Hp	Schüttelblut	9,4	negativ	9,4
		fleisch- und blutfreie Diät	etwa 95 mg Hp peroral	„	7,5	„	7,5
		„ „ „ „	5 · 1 ccm = 10 mg Hp intramusk.	„	9,4	3	ca. 6,4
		„ „ „ „	weiter 7 · 1 ccm = 14 mg Hp intramusk.	„	12,5	3	„ 9,5

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Name	Diagnose	Diät	Behandlung	Untersuchungsmaterial	Gesamtporphyrin (berechnet als Protoporphyrin) γ %	Hämatoporphyrin γ %	Protoporphyrin γ %
Unkrüer	endogene Depression	die letzten 5 Tage fleisch- und blutfreie Diät	in 23 Tagen etwa 360 mg Hp peroral	Schüttelblut	18	negativ	18
Drees	Depression, teils exogen, teils arteriosklerotisch bedingt	die letzten 5 Tage fleisch- und blutfreie Diät	in 20 Tagen etwa 295 mg Hp peroral	Schüttelblut	12,5	negativ	12,5
Fischer	depressiv gefärbte Schizophrenie	5 Tage vor der Blutentnahme fleisch- und blutfreie Diät	in den letzten 4 Wochen 20 Injekt. = 60 mg Hp intramusk. Davor 600 mg Hp peroral	Schüttelblut	21	quantitativ nicht bestimmbare Menge	ca. 21
Concaicaon	schizophrener Stupor	5 Tage vor der Blutentnahme fleisch- und blutfreie Diät	in den letzten 5 Wochen 15 Injekt. = 40 mg Hp intramusk.	Schüttelblut	15,6	12,5	ca. 3,1

Tabelle 2.

Berndmeier	Schizophrenie	die letzten 5 Tage fleisch- und blutfreie Diät	kein Hp	Serum	negativ	negativ	negativ
		die letzten 5 Tage fleisch- und blutfreie Diät	kein Hp	Blutkörperchen	22	„	22
Apel	Melancholie	die letzten 5 Tage fleisch- und blutfreie Diät —	kein Hp	Serum	negativ	negativ	negativ
		die letzten 5 Tage fleisch- und blutfreie Diät	kein Hp	Blutkörperchen	37	„	37

Hp = Abkürzung für Hämatoporphyrin. Schüttelblut = durch Schütteln mit Glasperlen flüssig erhaltenes Blut.

Tabelle 3. Protoporphyringehalt des Blutes gesunder Männer.

1. W. L. 13 γ%, 2. G. M. 14 γ%, 3. W. B. 10 γ%,
4. J. S. 11 γ%, 5. H. Z. 15 γ%, 6. W. D. 17 γ%,
Mittelwert: 13 γ%.

Untersucher starke Abweichungen, die freilich bis zu einem gewissen Grade in der Schwierigkeit des Untersuchungsverfahrens begründet sein können*. Im Rahmen der Hauptaufgabe unserer eigenen Untersuchung haben wir unsere Aufmerksamkeit namentlich auch auf den etwaigen Gehalt an anderen ätherlöslichen Porphyrinen gerichtet. Dabei zeigte sich, daß spektroskopisch oder spektrographisch nachweisbare Mengen von dem physiologisch im Harn und in der Galle[12] auftretenden Koproporphyrin und ebenso von Hämatoporphyrin oder anderem ätherlöslichen Porphyrin in den verarbeiteten Mengen Blut nicht vorhanden sind. Dagegen haben wir in Bestätigung der Beobachtungen Hijmans v. d. Berghs im Vollblute regelmäßig einen Gehalt an Protoporphyrin gefunden.

Das von uns untersuchte Blut stammte von geisteskranken Frauen, die seit 4—5 Tagen vollkommen hämoglobinfrei ernährt worden waren**. Unter Beachtung aller, nach unseren Feststellungen (s. oben) erforderlichen Vorsichtsmaßregeln konnten wir den Gehalt an Protoporphyrin in unseren 7 Fällen zu durchschnittlich etwa 15 γ% bestimmen***. Der geringste Wert betrug 9,4 γ%, der höchste 19 γ%, vgl. Tabelle 1.

Bei zwei weiteren Fällen haben wir Blutkörperchen und Serum getrennt auf den Gehalt an Protoporphyrin untersucht, im Serum kein Protoporphyrin gefunden, in den Körperchen 22 bzw. 37 γ%.

In genau derselben Weise haben wir das Blut von 6 gesunden Männern (Blutspendern) untersucht und dabei etwa dieselben Werte erhalten (vgl. Tabelle „3“).

Die theoretische Möglichkeit, daß außer dem nachgewiesenen Gehalt etwa einige γ% in Form von besonderen Metallkomplexverbindungen vorhanden sind, läßt sich vorläufig nicht sicher ausschließen, weil gegebenenfalls damit gerechnet werden muß, daß sie bei der Behandlung des ursprünglichen Porphyrinauszuges mit Salzsäure nicht in diese übergehen. Ferner ist wohl selbst die Möglichkeit nicht ganz von der Hand zu weisen, daß sich ein winziger Anteil des ursprünglichen Protoporphyringehalts bei Zusatz der Eisessig-Essigester-Mischung zum Blut mit etwa vorhandenen Spuren einfacher Eisenverbindungen zu Hämatin verbindet und so der Bestimmung entgeht.

---

* Man vgl. hierzu die Ausführungen auf S. 533.

** Die sorgsame Ordnung der Diätverhältnisse und die sonstige Betreuung der Kranken hat Herr Dr. med. et phil. J. Hühnerfeld persönlich durchgeführt.

*** Eine Ausnahme macht der Fall ter Haar, bei dem wir den viel höheren Protoporphyringehalt von etwa 170 γ% fanden. Da die unter sorgsamer Beachtung aller Vorsichtsmaßregeln bei drei (an verschiedenen Tagen entnommenen) Blutproben durchgeführte Untersuchung jedesmal den gleich hohen Wert lieferte, müssen bei diesem Falle besondere pathologische Verhältnisse vorliegen, die näher erforscht werden sollen.

[12] Schumm, O.: H. S. **153**, 233 (1926); vgl. O. Schumm: H. S. **126**, 171 (1923).

Der Porphyringehalt des Blutes bei peroraler Hämatoporphyrinzufuhr.

Wir haben dann das Blut derselben Frauen untersucht, nachdem sie peroral mit Hämatoporphyrin behandelt waren (vgl. Tabelle 1). In den verarbeiteten, je 100 ccm Blut haben wir Hämatoporphyrin nicht nachweisen können, nur in einem Falle erhielten wir auf dem Spektrogramm, das von dem in Betracht kommenden Auszug hergestellt worden war, eine Andeutung des Violettstreifens. — Demnach geht das Hämatoporphyrin bei peroraler Zufuhr entweder nur in solchen winzigsten Spuren in das Blut über, die in Salzsäurelösung auch bei großer Schichtdicke spektrographisch in der Regel nicht mehr feststellbar sind, oder aber vielleicht in jenen geringen Spuren, die, wenn frei vorhanden, in salzsaurer Lösung spektrographisch zwar eben noch erfaßt werden könnten, bei der Blutverarbeitung aber dem Nachweis entgehen, weil sie bei seiner Behandlung mit Eisessig und weiter mit im Blute vorhandenen Spuren von Metallsalzen zu Komplexverbindungen zusammentreten.

Der Porphyringehalt des Blutes bei intramuskulärer Hämatoporphyrinzufuhr.

Ganz andere Ergebnisse erhielten wir, sobald den Patientinnen Hämatoporphyrin intramuskulär einverleibt wurde. Dann ließ sich regelmäßig ein zwar geringer, aber deutlicher Gehalt an einem in Äther löslichen, in Chloroform vollkommen unlöslichen Porphyrin nachweisen, das nach Lage der Verhältnisse als Hämatoporphyrin angesehen werden muß. Eine bestimmte Beziehung zwischen der Gesamtmenge zugeführten Hämatoporphyrins und der Höhe des Gehalts im Blute läßt sich aus unseren Versuchen noch nicht ableiten. Die in den verschiedenen Fällen insgesamt injizierte Menge Hämatoporphyrin betrug zwischen 8 und 60 mg, die ermittelte Konzentration an Hämatoporphyrin im Blute zwischen 3 und 12,5 γ%, wobei der Wert 12,5 γ% in dem Falle erhalten wurde, wo innerhalb 5 Wochen durch 15 Injektionen zusammen 40 mg Hämatoporphyrin zugeführt waren.

Einige der von uns für den Protoporphyringehalt des Blutes gefundenen Werte scheinen anzudeuten, daß unter der Einwirkung des Hämatoporphyrins eine Abnahme des Protoporphyringehalts eintreten kann. Es wäre aber verfrüht, einen dahingehenden Schluß zu ziehen, weil wir über die gewöhnlichen Ursachen der auch sonst beobachteten ziemlich beträchtlichen Schwankungen im Protoporphyringehalt menschlichen Blutes nicht genügend unterrichtet sind.

Der von uns festgestellte Hämatoporphyringehalt des Blutes reicht nicht entfernt an den Hämatoporphyringehalt hinan, der in dem bekannten Selbstversuch von Meyer-Betz bestanden hat und zu starken Photosensibilisierungserscheinungen geführt hatte.

Auf Grund der eigenen Angaben von Meyer-Betz über den spektroskopischen Befund seines Blutes muß dessen Gehalt an Hämatoporphyrin ungefähr 10000 γ% = 0,01 g% betragen haben, also schätzungsweise das 1000fache der von uns bei intramuskulärer Hämatoporphyrinzufuhr ermittelten Konzentration! Zwischen beiden Gehalten liegt die seinerzeit vom Verfasser im Blute des bekannten Hämatoporphyrie-Falles Petry[13] ermittelte Konzentration an lichtgiftigem Uroporphyrin, die ungefähr 1000 γ% = 0,001 g% betrug[14].

Da wir auch bei länger fortgesetzter intramuskulärer Anwendung des Hämatoporphyrins keine erhebliche Steigerung des Hämatoporphyringehalts im Blute wahrnehmen konnten, ist das Eintreten irgendwelcher nachteiligen Photosensibilisierungserscheinungen (sog. lichtgiftiger Wirkung) bei der eingehaltenen Dosierung des Hämatoporphyrins unseres Erachtens nicht zu erwarten; denn die höchste in unseren Fällen beobachtete Hämatoporphyrin-Konzentration (etwa 13 γ%) des Blutes betrug nur $^1/_{50}$ bis $^1/_{100}$ der Porphyrinkonzentration des Serums bei dem erwähnten Falle von congenitaler Hämatoporphyrie mit chronischen Photosensibilisierungserscheinungen.

Für die freundliche Überlassung des klinischen Materials sprechen wir auch an dieser Stelle Herrn Dr. med. et phil. J. Hühnerfeld unseren Dank aus.

Zusammenfassung.

1. Unter Einbeziehung des vom Verfasser bereits früher angegebenen chemischen Trennungsverfahrens („Salzsäure-Chloroformmethode") wurde ein sowohl auf das Blut als auch auf Blutserum anwendbares Verfahren zur quantitativen Bestimmung kleinster Mengen von Protoporphyrin sowie von Hämatoporphyrin neben Protoporphyrin beschrieben, zu dessen Anwendung zweckmäßig 50—100 ccm Blut oder 25—100 ccm Serum benutzt werden. Für die dabei erforderlichen spektrographischen Aufnahmen eignet sich ein Spektrograph mit einem Cornuprisma und Quarzflußspatachromaten von etwa 40 cm Brennweite. Für besonders genaue Ortsbestimmungen der Porphyrinviolettbande werden zur Kontrolle Aufnahmen der Porphyrinauszüge mit dem vom Verfasser angegebenen Gitterspektrographen unter Benutzung der Nernst-Lampe und der Helium- oder Quecksilber-Heliumspektralröhre[14] hergestellt. Die Ausführung der Blutuntersuchung geschieht im wesentlichen in einem vor Tageslicht geschützten Raum. Wegen der Empfindlichkeit der in Betracht kommenden sehr schwachen Porphyrinlösungen muß die Untersuchung einschließlich der spektrographischen Aufnahmen ohne längere Unterbrechung durchgeführt werden.

---

[13] Schumm, O.: H. S. **98**, 123 (1916); **105**, 158 (1919); **132**, 62 (1924). — [14] Schumm, O.: Spektrochemische Analyse natürlicher organischer Farbstoffe. Jena, G. Fischer, 1927; vgl. auch „Die spektroskopische und spektrographische Untersuchung des Blutes" in Bd. II des Handb. d. allgem. Hämatologie. Berlin, Urban & Schwarzenberg, 1933.

2. Bei blutfreier Kost konnte in 50—100 ccm Blut bei unseren Kranken Koproporphyrin spektrographisch nicht nachgewiesen werden.

3. Der nachweisbare Gehalt des Blutes an Protoporphyrin betrug in unseren Fällen bei blutfreier Kost ungefähr 9—19 γ%, der Gehalt der Blutkörperchen in zwei Fällen 22 bzw. 37 γ%, in einem besonderen, durch eine innere Erkrankung komplizierten Falle betrug der Gehalt des Blutes an Protoporphyrin 170 γ%. Im Blute von 6 gesunden Männern (Blutspendern) fanden wir einen durchschnittlichen Protoporphyringehalt von 13 γ%.

4. Nach peroraler, bei blutfreier Kost über eine Reihe von Tagen hin durchgeführter Behandlung mit Hämatoporphyrin („Photodyn") in den nach J. Hühnerfeld anzuwendenden Dosen konnte in der Regel im Blute Hämatoporphyrin spektrographisch nicht nachgewiesen werden, so daß in unseren Fällen ein etwa doch vorhanden gewesener Gehalt an Hämatoporphyrin unterhalb einer Konzentration von 2 γ% gelegen haben dürfte. Nur in einem Falle wurde eine Andeutung von Violettabsorption erhalten, die auf Hämatoporphyrin bezogen werden kann.

5. Nach intramuskulärer Zufuhr von Hämatoporphyrin bei denselben Fällen konnte in 100 ccm Blut ausnahmslos ein in Chloroform unlösliches Porphyrin nachgewiesen werden, das in den von uns geprüften Eigenschaften mit denen des Hämatoporphyrins übereinstimmte. Der Gehalt betrug 3—13 γ%.

Einige unserer Beobachtungen scheinen dafür zu sprechen, daß unter der Einwirkung des Hämatoporphyrins eine Abnahme des Protoporphyringehalts eintreten kann. Zur Klärung dieser Frage sind weitere Untersuchungen an Gesunden und Kranken unter bestimmten Ernährungsverhältnissen erforderlich.

Erläuterungen zu den Spektrogrammen*.

a) Quarzspektogramme.

Abb. 1 und 2. Salzsäurelösung des Gesamtporphyrins.
„1" aus frisch verarbeitetem Blut. „2" aus demselben Blut bei Verarbeitung nach 2tägigem Stehen bei Zimmertemperatur; bei „2" ist kein höherer Porphyringehalt gefunden als bei „1".

Abb. 3. Fall Andrup. Gesamtporphyrin bei blutfreier Diät.

Abb. 4. Fall Andrup. Die 4 oberen Spektren: blutfreie Diät, in der Hämatoporphyrinfraktion Hämatoporphyrin nicht nachweisbar, die 4 unteren Spektren: blutfreie Diät, perorale Hämatoporphyrinzufuhr, in der Hämatoporphyrinfraktion Hämatoporphyrin nicht nachweisbar.

Abb. 5. Fall Andrup. Blutfreie Diät, intramuskuläre Hämatoporphyrinzufuhr; in der Hämatoporphyrinfraktion Hämatoporphyrin positiv (sehr schwacher Violettstreifen, an Spektrum „2" erkennbar).

Abb. 6. Fall Heidrich. Die 4 oberen Spektren: blutfreie Diät, Hämatoporphyrinfraktion: kein Violettstreifen; die 4 unteren Spektren: blutfreie Diät, perorale Hämatoporphyrinzufuhr, in der Hämatoporphyrinfraktion Hämatoporphyrin nicht nachweisbar.

Abb. 7. Fall Heidrich. Blutfreie Diät, Salzsäurelösung des Protoporphyrins.

Abb. 8. Fall Heidrich. Blutfreie Diät, intramuskuläre Hämatoporphyrinzufuhr, in der Hämatoporphyrinfraktion Hämatoporphyrin positiv, der Violettstreifen an Spektrum „2" erkennbar.

Abb. 9. Fall ter Haar. Blutfreie Diät, intramuskuläre Hämatoporphyrinzufuhr, Salzsäurelösung des Gesamtporphyrins.

Abb. 10. Dasselbe Blut: Hämatoporphyrinfraktion, Hämatoporphyrin positiv, am Spektrum „2" Violettstreifen des Hämatoporphyrins.

Abb. 11. Fall Giesker. Blutfreie Diät, perorale Hämatoporphyrinzufuhr, in der Hämatoporphyrinfraktion Hämatoporphyrin nicht nachweisbar.

Abb. 12. Fall Giesker. Blutfreie Diät, intramuskuläre Hämatoporphyrinzufuhr, in der Hämatoporphyrinfraktion Hämatoporphyrin positiv, am Spektrum „2" Violettstreifen des Hämatoporphyrins erkennbar.

Abb. 13. Fall Kremer. Blutfreie Diät, perorale Hämatoporphyrinzufuhr, in der Hämatoporphyrinfraktion Hämatoporphyrin nicht nachweisbar.

Abb. 14. Fall Kremer. Blutfreie Diät, intramuskuläre Hämatoporphyrinzufuhr, in der Hämatoporphyrinfraktion Hämatoporphyrin positiv, am Spektrum „2" Violettstreifen des Hämatoporphyrins erkennbar.

Abb. 15. Fall Kremer. Blutfreie Diät, fortgesetzte intramuskuläre Hämatoporphyrinzufuhr, in der Hämatoporphyrinfraktion Hämatoporphyrin positiv.

Abb. 16 und 17. Fall Kremer. Blutfreie Diät, Hämatoporphyrinzufuhr längere Zeit unterbrochen; Abb. 16 Gesamtporphyrin, Abb. 17 der chloroformunlöslichen Porphyrine: weder Hämatoporphyrin noch Koproporphyrin nachweisbar.

Abb. 18. Obere Spektren: Violettstreifen einer salzsauren Hämatoporphyrinlösung; untere Spektren: Violettstreifen einer salzsauren Protoporphyrinlösung.

Abb. 19. Obere Spektren: Violettstreifen einer höchst schwachen salzsauren Hämatoporphyrinlösung bei abgestufter Schichtdicke; untere Spektren: Violettstreifen einer sehr schwachen salzsauren Protoporphyrinlösung bei abgestufter Schichtdicke.

b) Gitterspektrogramme.

Abb. 20. Lösung von Protoporphyrin, 20 γ in 100 ccm 10% HCl. Belichtung mit Nernstlampe und Kondensorlinse. Spektren 1 und 8: leere Spektren; Spektren 2 bis 7: Aufnahmen der Lösung bei 10, 8, 6, 4, 2 und 1 cm Schichtdicke.

Abb. 21. Dasselbe wie „20", aber mit Einschaltung eines Lichtfilters (Jenaer Blauglas).

Abb. 22. Spektren 1 bis 4 Aufnahmen einer Protoporphyrinlösung, 20 γ in 100 ccm 10% HCl, bei 10, 8, 6 und 4 cm Schichtdicke (als Lichtfilter Blauglas). Spektren 5 bis 8: unter denselben Bedingungen hergestellte Aufnahme einer gleichstarken Lösung von Hämatoporphyrin-Nencki. Violettstreifen: etwas schmäler, aber stärker als bei Protoporphyrin.

Abb. 23. Dasselbe wie „21", aber etwas länger belichtet.

Abb. 24, 25, 26. Aufnahmen der aus dem Blut dreier gesunder, erwachsener Männer gewonnenen Protoporphyrinlösungen, je bei 6, 5, 4, 3, 2 und 1 cm Schichtdicke; oben und unten Leerspektren, (Lampe, Blauglas, Kondensorlinse).

---

* Die Spektrogramme sind sogenannte Konzentrationsreihen, Reihen von Aufnahmen bei abgestufter Schichtdicke der Lösungen; das oberste Spektrogramm gibt das leere Spektrum (Spektrum der Lampe mit eingeschaltetem Blauglas) wieder.

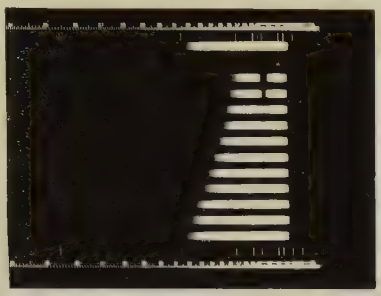


Abb. 1.

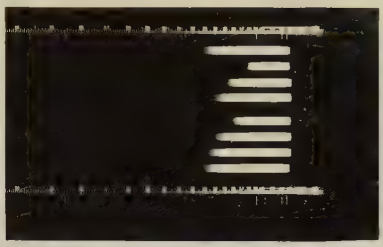


Abb. 6.

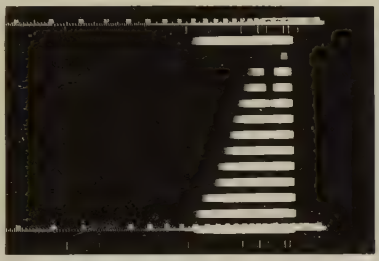


Abb. 2.

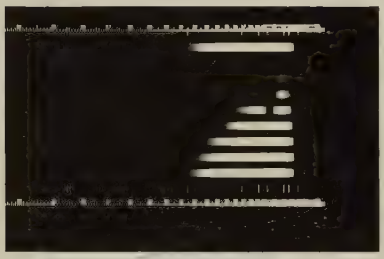


Abb. 7.

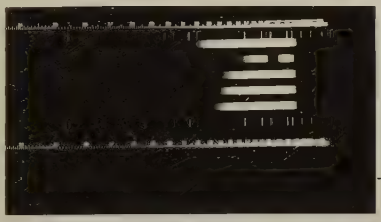


Abb. 3.

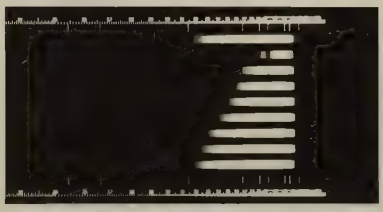


Abb. 8.

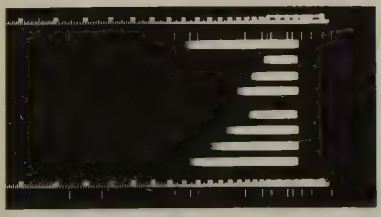


Abb. 4.

Abb. 9.

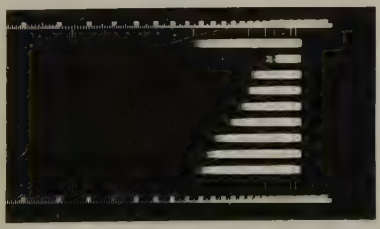


Abb. 5.

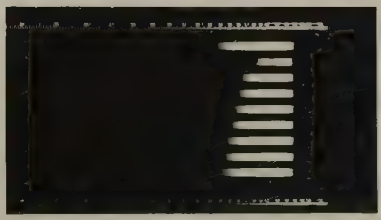


Abb. 10.

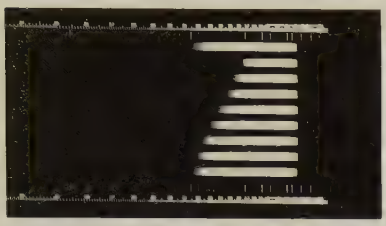


Abb. 11.

Abb. 12.

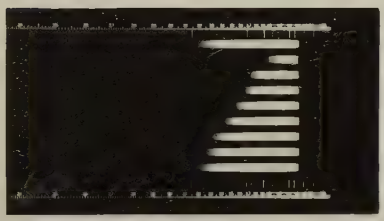


Abb. 13.

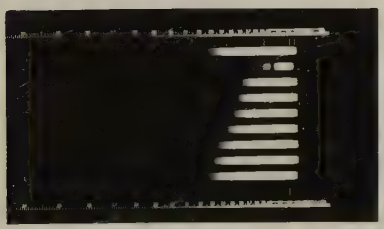


Abb. 14.

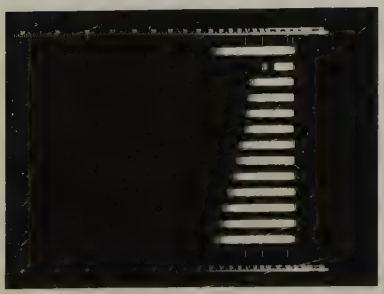


Abb. 15.

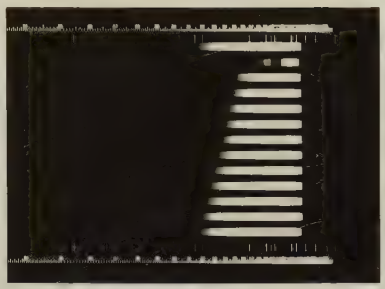


Abb. 16.

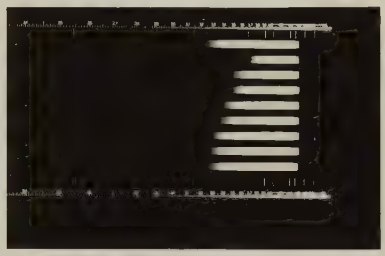


Abb. 17.

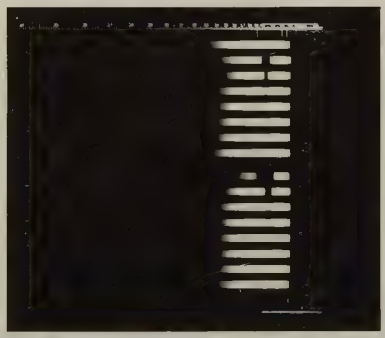


Abb. 18.

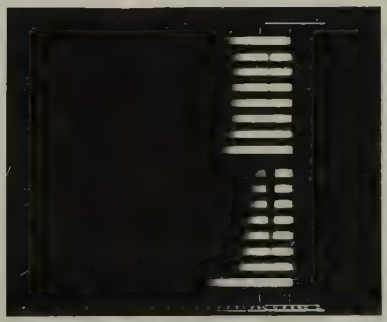


Abb. 19.

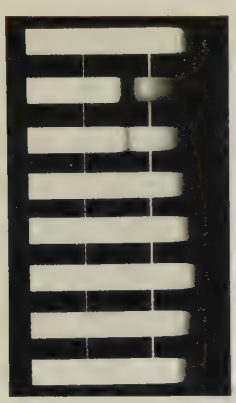


Abb. 20.

Abb. 21.

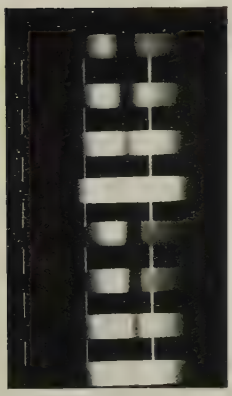


Abb. 22.

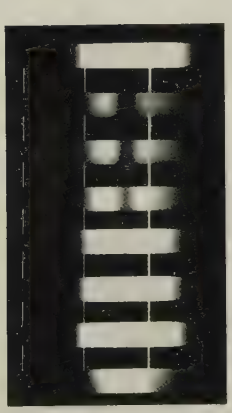


Abb. 23.

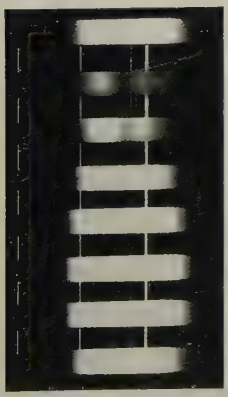


Abb. 24.

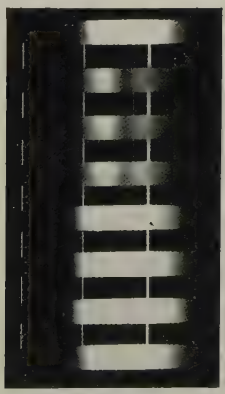


Abb. 25.

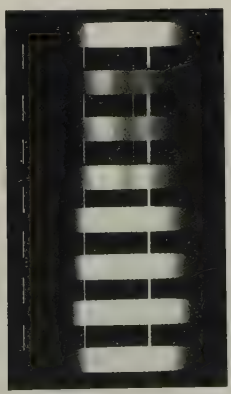


Abb. 26.

Aus dem Physiologischen und Allgemeinen Pathologischen Institut der Universität Debrecen.

Über die Shockresistenz der weißen Ratte.

Von

St. Went und **J. Martin.**

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. September 1938.)

Die Feststellung, daß zwischen den Säugetieren die weiße Ratte dem anaphylaktischen Schock bzw. den diesen Schock auslösenden Faktoren gegenüber charakteristisch und eigenartig sich verhält, ist durchaus nicht neu. Dieses eigenartige Verhalten offenbart sich darin, daß die Ratten Eiweißkörpern gegenüber nicht, oder mindestens nur unter ganz speziellen Bedingungen sensibilisierbar sind (Ebert[1]); eine Ausnahme hierzu bildet allerdings die Uterusmuskulatur, welche sowohl bei aktiver (Tum Suden[2]) als auch bei passiver (Kellaway[3]) Sensibilisierung dem homologen Eiweiß gegenüber eine ausgesprochene Reaktionsbereitschaft aufweist. — Es ist zu verstehen, daß bei Betrachtung der Schockresistenz der weißen Ratte auch die Frage der Histaminresistenz dieser Tiere sich erhebt. Nach Voegtlin und Dyer[4] liegt die tödliche Dosis des intravenös gegebenen Histaminphosphats für Ratten bei 900 mg, die des Histaminchlorhydrates nach Schmidt und Stähelin[5] bei 230—270 mg pro Körpergewichtskilogramm; es handelt sich also jedenfalls um die mehrhundertfache Menge der für die anderen Tiere tödlichen Dosis. Aus den übrigen — mit diesen übereinstimmenden — Angaben geht zuletzt hervor, daß die Histaminresistenz der weißen Ratte jener eigenartigen großen Widerstandsfähigkeit entspricht, welche diese Tiere den anaphylaktischen Schock auslösenden Faktoren gegenüber zeigen. Dieses eigenartige Verhalten der Ratte wurde bisher von den Autoren überwiegend mit der starken kompensatorischen Funktion der Nebennieren erklärt. Nach Wyman[6, 7] und Wyman und Suden[8] wird die Widerstandsfähigkeit der Ratte durch beiderseitige Nebennierenexstirpation sowohl Histamin als auch dem Eiweißschock gegenüber stark herabgesetzt; nach Adrenalineinspritzung wird die Widerstandsfähigkeit wiederum erhöht, wogegen Transplantation von Nebennierenrinde keine solche Folge hatte. Wyman schließt daraus, daß die Histaminschock-

[1] Ebert, M. K.: Z. f. Immunitätsforsch. **51**, 79 (1927). — [2] Tum Suden, C.: Amer. J. of Physiol. **108**, 416 (1934). — [3] Kellaway, C. H.: Brit. Jl. exper. Pathol. **11**, 72 (1930). — [4] Voegtlin, C., u. H. A. Dyer: J. of the pharmacol. and exper. therapeut. **24**, 101 (1934). — [5] Schmidt, G. W., u. A. Stähelin: Z. f. Immunitätsforsch. **60**, 222 (1929). — [6] Wyman, L. C.: Amer. J. of Physiol. **87**, 29 (1928). — [7] Wyman, L. C.: Ebenda **89**, 356 (1929). — [8] Wyman, L. C., u. C. Tum Suden: Ebenda **89**, 152 (1929).

empfindlichkeit der epinephrektomisierten Ratte auf den Funktionsausfall des Nebennierenmarks und nicht auf den der Rindensubstanz zurückzuführen ist. Auch Perla und Marmorston-Gottesman[9] beobachteten, daß die Histamin- und Schockresistenz epinephrektomisierter Ratten auf Adrenalingaben von 0,2 mg, täglich zweimal subcutan, deutlich erhöht wird; diese Wirkung hört 24 Stunden nach der letzten Injektion auf. Crivellari[10] hat die kleinsten tödlichen Dosen von Cyankali, Nikotin, Azetylcholin und Histamin an epinephrektomisierten und normalen Ratten ermittelt; wie die unten angeführten Zahlen beweisen, wurde die Empfindlichkeit der epinephrektomisierten Tiere diesen Giften gegenüber erhöht, besonders stark aber Azetylcholin und Histamin gegenüber.

Tödliche Dosis mg pro kg.

	Kontrolltier	Epinephrektomisiertes Tier
KCN	11	8
Nikotin	27,5	17,5
Azetylcholin	5000	50
Histamin(phosphat)	500—700	40

Es soll hierbei noch die Beobachtung von Seegal und Khorazo[11] erwähnt werden, daß anaphylaktische Schockerscheinungen bei mit Weißbrot und Wasser gefütterten Ratten jedesmal ausgelöst werden konnten, die mit Hafer, Brot, Milch und Gemüse gefütterten Tiere blieben dagegen resistent; zu gleicher Zeit waren die Nebennieren der auf Weißbrot-Wasser-Diät gehaltenen Ratten bemerkbar zurückgebildet.

Wir besprechen im folgenden einige unserer Versuche, welche zwecks weiterer Klärung der bei den weißen Ratten beobachteten Schockresistenz unternommen wurden.

Es wurde vor allem die Reaktionsbereitschaft von Blutdruck, Bronchialmuskulatur und isoliertem Herz sensibilisierter weißer Ratten homologem Eiweiß gegenüber untersucht.

Die Sensibilisierung wurde auf zweierlei Art durchgeführt. Eine Gruppe der auf gemischter Diät (Milch, Brot, Gemüse) gehaltenen Ratten (Gewicht 150—200 g) erhielt einmal 0,5 ccm, die andere Gruppe 0,2 und sodann nach 3 Tagen 0,3 ccm Rinderserum intraperitoneal. Die Versuche wurden 21—35 Tage nach der Sensibilisierung durchgeführt, und zwar ein jeder Versuch bei jeder der beiden sensibilisierten Gruppen.

Die Blutdruckregistrierung erfolgte folgendermaßen: Die in die Carotis eingeführte Kanüle wurde mit einem Quecksilbermanometer verbunden und mit Heparinlösung gefüllt. Das Manometer wurde entsprechend dem voraussichtlichen Blutdruckwert (100—115 Hg mm) eingestellt, womit das Zurückbleiben des Heparins in der Kanüle nach Befreiung der Arteria carotis sichergestellt und somit darin die Blutgerinnung selbst bei Ver-

[9] Perla, D., u. J. Marmorston-Gottesman: Amer. J. of Physiol. **89**, 152 (1929). — [10] Crivellari, C. A.: C. r. Soc. Biol. **96**, 223 (1927). — [11] Seegal, B. C., u. D. Khorazo: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **7**, 827 (1929).

suchen von längerer Dauer verhindert wurde. Die Blutdruckschwankungen wurden am Kymographion registriert. Die Reinjektion des homologen Eiweißes erfolgte in die Schwanzvene.

Die Reaktion der Bronchialmuskulatur wurde am von Baehr und Pick[12] empfohlenen und später von Feldberg und seinen Mitarbeitern[13] auch in anaphylaktischen Versuchen gebrauchten Herzlungenpräparat beobachtet, mit der Modifizierung, daß die Exkursionen bzw. Atmungserweiterungen der Lunge mittels Onkometer registriert wurden (Abb. 1). Am sensibilisierten Tiere wurde in oberflächlicher Urethannarkose Tracheotomie gemacht und künstliche Atmung von ständiger Frequenz und Tiefe eingestellt. Die Brustorgane wurden nach Entfernung des Sternums exponiert, und vom rechten Vorhof her in die Arteria pulmonalis eine Kanüle

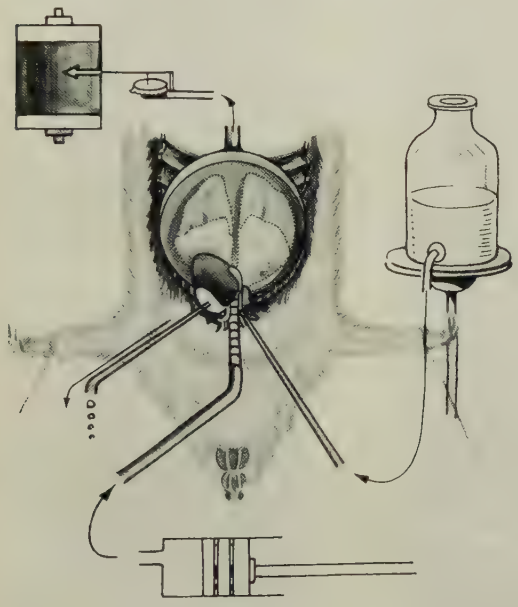


Abb. 1.

Abb. 2.

eingeführt, dann diese mit einer Mariotte-Flasche, welche etwas überwärmte (45° C) Tyrodelösung enthielt und in 30 cm Höhe gestellt wurde, verbunden. Das Perfusat wurde durch eine in die linke Aurikel eingebundene Kanüle abgeleitet, so daß wir die Menge der durch die Lunge perfundierenden Flüssigkeit durch die Tropfenzahl kontrollieren konnten. Die Reaktion der Bronchialmuskulatur bzw. der Eintritt der anaphylaktischen Lungenstarre wurde mit dem Onkometer registriert, so daß beide Lungenteile in ein zu diesem Zwecke verfertigtes Onkometer (Abb. 2), welches mit einer Mareyschen Trommel verbunden war, eingesetzt wurden. Das homologe

[12] Baehr, G., u. E. P. Pick: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **74**, 41 (1913). — [13] Bartosch, R., W. Feldberg u. E. Nagel: Pflügers Arch. **230**, 647 (1932); **231**, 616 (1933).

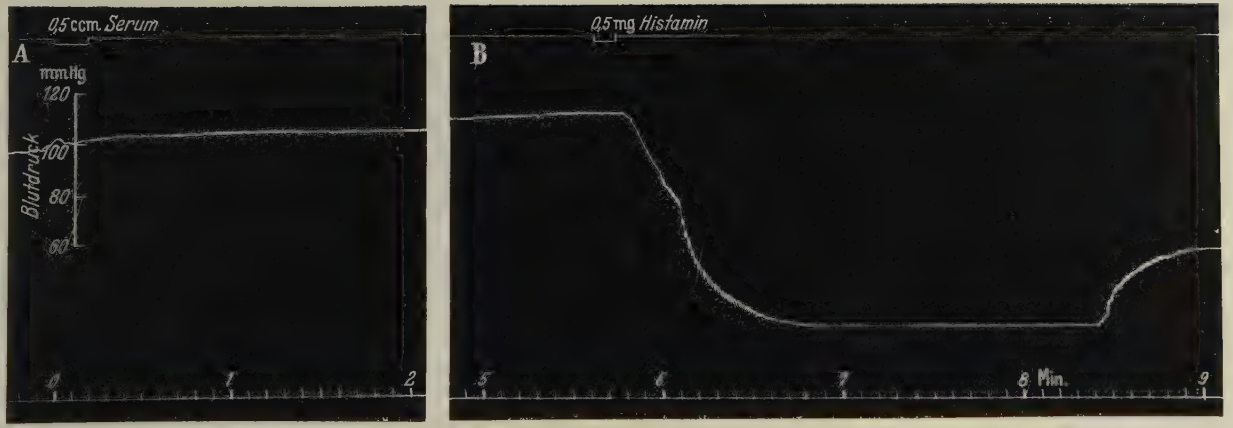

0,5 ccm. Serum
A
mm Hg
120
100
80
60
Blutdruck
0
1
2
0,5 mg Histamin
B
5
6
7
8 Min.
9

Abb. 3.

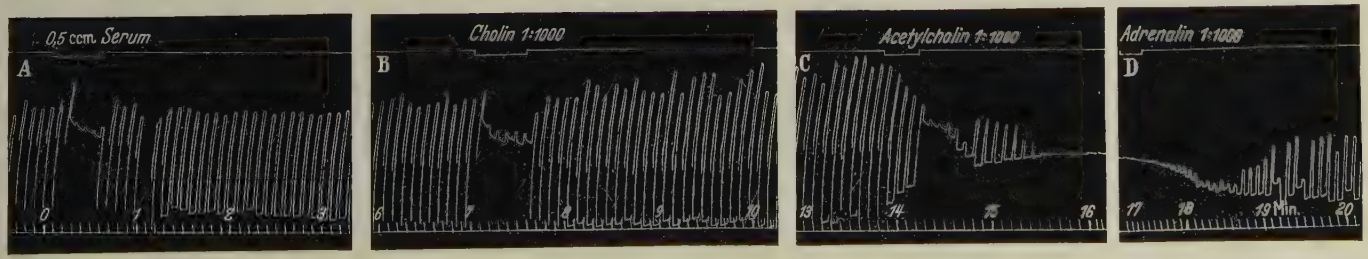

0,5 ccm. Serum
A
0
1
2
3
Cholin 1:1000
B
6
7
8
9
10
Acetylcholin 1:1000
C
13
14
15
16
Adrenalin 1:1000
D
17
18
19 Min.
20

Abb. 4.

Eiweiß wurde (immer in einer Flüssigkeitsmenge von 1 ccm) langsam in die zur Arteria pulmonalis führende Kanüle eingespritzt.

Zur Registrierung der Reaktionen des isolierten Rattenherzens wurde dieselbe Einrichtung gebraucht, welche wir in unseren Meerschweinchenversuchen angewendet haben[14, 15]; 1 ccm der Versuchsflüssigkeit wurde unmittelbar in die Herzkanüle eingespritzt. In den anaphylaktischen Untersuchungen wurde 1 ccm des homologen Serums in einer Verdünnung von 1 : 100 angewendet, da das normale Rattenherz durch diese Rinderserummenge gar nicht beeinflußt wurde.

Abb. 3 (Versuch A) zeigt die Wirkung des intravenös gegebenen homologen Eiweißes auf das Verhalten des Blutdrucks von sensibilisierten Ratten.

Es ist zu sehen, daß die anaphylaktische Reaktion vollkommen ausgeblieben ist, trotz der verhältnismäßig großen Menge (0,5 ccm Rinderserum) des reinjizierten homologen Eiweißes. In unseren weiteren Versuchen wurde die Reinjektion teils mit kleineren (0,2, 0,3, 0,4 ccm), teils mit größeren (0,6, 0,7, 0,8 ccm) Serummengen unternommen, ohne jegliche Blutdruckreaktion. Die zur Kontrolle gegebene Menge von 0,5 mg Histamin hat dagegen eine ausgesprochene Blutdrucksenkung herbeigeführt (Abb. 3, Versuch B).

An durchströmter Lunge sensibilisierter Ratten konnten wir das Zustandekommen eines anaphylaktischen Bronchospasmus ebenfalls nie beobachten (Abb. 4, Versuch A).

Es ist zu bemerken, daß auf die mechanische Wirkung der in die Pulmonalkanüle gegebenen 1 ccm Flüssigkeitsmenge gelegentlich eine deutliche Verringerung der Lungenexkursionen bemerkbar war, welche mit der später eingetretenen anaphylaktischen Lungenstarre natürlich in keinerlei Zusammenhang stand. — In den Kontrollversuchen trat auf eine Azetylcholinlösung von 1% deutlicher Bronchospasmus auf (C), welcher mit Adrenalin (D) gelöst werden konnte. Eine Cholinlösung von 1‰, welche in anderen Versuchen noch eine schwache Wirkung herbeigeführt hat, blieb in diesen Versuchen ohne Wirkung (Abb. 4, Versuch B).

Wir haben in unseren früheren Untersuchungen berichtet[15], daß das isolierte Herz sensibilisierter Meerschweinchen auf die Einwirkung des homologen Eiweißes typische Funktionsänderungen zeigt (Arrhythmie, negativ chronotrope und inotrope Wirkung); am Herz von sensibilisierten Ratten haben wir dagegen niemals diese anaphylaktischen Erscheinungen beobachtet. — In unserem in Abb. 5 angeführten Versuche hat nach der praktisch wirkungslosen Reinjektion des homologen Eiweißes die zur Kontrolle gegebene 1‰ige Histaminlösung eine stark positiv inotrope und chronotrope Wirkung herbeigeführt.

---

[14] Went, S., u. K. Lissák: Arbeiten der II. (Medizinisch-Naturwissenschaftlichen) Abteilung der Stefan-Tisza-Gesellschaft in Debrecen **6**, 34 (1936). — [15] Went, S., u. K. Lissák: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 609 (1935).

Mit diesen Versuchsresultaten übereinstimmend, hat sich die Reaktionsbereitschaft von Blutdruck, Brochialmuskulatur und isoliertem Herz der weißen Ratte den drei Schocksubstanzen: Histamin, Cholin und auch Azetylcholin gegenüber als außerordentlich stark herabgesetzt erwiesen. Besonders auffallend ist diese eigenartige Resistenz, wenn man sie mit der Histamin-, Cholin- und Azetylcholinempfindlichkeit von Blutdruck, Brochialmuskulatur und isoliertem Herz des Meerschweinchens vergleicht.

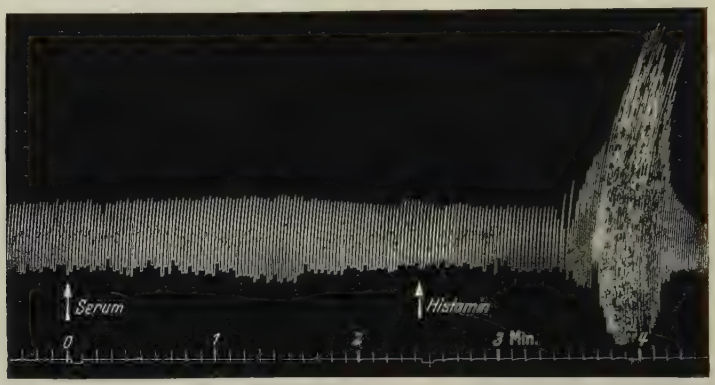


Abb. 5.

Wir fassen auf Grund unserer Versuche die Empfindlichkeit dieser Tiere den genannten Substanzen gegenüber in der nachstehenden Tabelle zusammen.

	Kleinste noch wirksame Mengen der Schocksubstanzen in mg					
	Histamin		Cholin		Azetylcholin	
	Ratte	Meerschweinchen	Ratte	Meerschweinchen	Ratte	Meerschweinchen
Blutdruck	0,5 (Senkung)	0,05 (Steigerung)	ohne Wirkung	0,02	0,01	0,001
Bronchospasmus	0,001	0,0000001	1	0,05	0,01	0,00000005
Herz	0,1	0,00002	0,5	0,25	0,0002	0,00001

Die Resistenz der Ratte, den die anaphylaktischen Schockerscheinungen auslösenden Faktoren gegenüber, wird von der Mehrheit der Autoren mit der Funktion der Nebennierenmarksubstanz in Zusammenhang gebracht. Diese Behauptung scheint aber in Beleuchtung unserer an isolierten Rattenlungen und -herzen gemachten Versuche sehr bestreitbar zu sein, da sich ja diese Resistenz auch an den aus der Zirkulation ausgeschalteten Organen unverändert offenbart. Man muß demnach die Erklärung hierzu auch in anderen Richtungen suchen.

Es ist bekannt, daß die weiße Ratte nicht nur den erwähnten drei Schocksubstanzen, sondern einer Reihe von verschiedenen biologisch wirksamen Stoffen und Giften gegenüber eine ausgesprochene Resistenz zeigt.

Voegtlin und Dyer[4] machen zwischen diesen Substanzen einen Unterschied, je nachdem ihr Angriffspunkt in der glatten Muskulatur, den Kapillarwänden, oder aber den Nervenelementen liegt. Diese verschiedene Reaktionsbereitschaft der Ratte offenbart sich ihrer Meinung nach nur den auf die glatte Muskulatur und Kapillaren wirksamen Giften gegenüber, während die an Nervenelementen angreifenden Gifte auch bei der Ratte in gleicher Weise wirken wie bei anderen Tieren. — Diese Annahme wird aber von unseren Untersuchungen keinesfalls unterstützt, nachdem es heute im allgemeinen anerkannt ist, daß die

Abb. 6.

Wirkung des Cholins und Azetylcholins in den parasympathischen Nervenendigungen zur Geltung kommt. Es ist nun hervorzuheben, daß wir im Falle des Azetylcholins den größten Unterschied zwischen der Empfindlichkeit von Meerschweinchen und Ratte feststellen konnten.

So wirkt z. B. das Azetylcholin nach dem in Abb. 6 dargestellten Versuch auf die Bronchialmuskulatur der Ratte höchstens in einer Verdünnung von 1 : 100000, auf die des Meerschweinchens dagegen (Abb. 7) sogar in Verdünnung von 20000 Millionen. Ähnliche Verhältnisse sind auch an isolierten Herzlungenpräparaten zu beobachten (siehe Tabelle).

Nach dem Gesagten ist es aber klar, daß die Resistenz der Ratte gegen die verschiedenen Wirkstoffe nicht auf eine einheitliche Ursache zurückgeführt werden

Abb. 7.

kann. Coca und seine Mitarbeiter[16] behaupten z. B., daß die große Widerstandsfähigkeit der Ratte gegen Diphtherietoxin darauf zurückzuführen ist, daß die Zellen fähig sind, das Eindringen des Toxins in das Zelleninnere irgendwie zu verhindern. Wenn wir diese Behauptung auf die übrigen Substanzen, welche unmittelbar auf die glatten Muskelelemente wirken, erweitern, — so unter anderem auch auf das Histamin —, so wird dadurch jene Resistenz, welche sowohl die in situ als auch die isolierten Rattenorgane Histamin gegenüber zeigen, eine Erklärung finden. Die Cholin- und Azetylcholinresistenz der Ratte muß dagegen mit einer verhältnismäßig herabgesetzten Empfindlichkeit der autonomen Nervenendigungen dieser Tiere erklärt werden. Wenn wir nun diese Beobachtungen mit den Feststellungen anderer Autoren bezüglich die Rolle der Nebennieren ergänzen, so können wir feststellen, daß die Resistenz der weißen Ratte, den die anaphylaktischen Schockerscheinungen auslösenden Faktoren gegenüber, mindestens in drei verschiedenen Ursachen begründet liegt. Bei in situ Organen: 1. die Eigenschaft der glatten Muskelelemente, wodurch diese das Eindringen von Giften und gewissen biologisch aktiven Substanzen zu verhindern fähig sind, 2. die herabgesetzte Empfindlichkeit der autonomen Nervenendigungen und 3. die kompensatorische Funktion des Nebennierenmarks führt die starke Resistenz gegen die Schockerscheinungen auslösenden Faktoren herbei, wogegen bei isolierten Organen offenbar nur die ersten zwei Faktoren zur Geltung kommen.

Zusammenfassung.

Es ist nicht gelungen, an Blutdruck, Bronchialmuskulatur und isoliertem Herz sensibilisierter weißer Ratten durch Zufuhr homologen Eiweißes die charakteristischen anaphylaktischen Reaktionen (Blutdrucksenkung, Bronchospasmus, Arrhythmia) herbeizuführen. Die Rattenorgane zeigten gleicherweise eine außerordentlich hohe Resistenz den anaphylaktischen Schock auslösenden, biologisch aktiven Substanzen — Histamin, Cholin und Azetylcholin — gegenüber. Diese Resistenz der weißen Ratte gegen die genannten Schocksubstanzen scheint in mindestens drei verschiedenen Faktoren begründet zu sein: 1. der Eigenschaft der glatten Muskelelemente, wodurch diese das Eindringen von Wirkstoffen in die Zelle zu verhindern fähig sind, 2. der herabgesetzten Empfindlichkeit der autonomen Nervenendigungen und 3. der kompensatorischen Funktion des Nebennierenmarks.

[16] Coca, A. F., E. F. Russel u. W. H. Baughman: Il. of Immunology 6. 387 (1921).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie zu Keijo.

Über die bioelektrische Reaktion des isolierten Großhirns auf verschiedene Nervengifte.

Von

Prof. Dr. **Bun-ichi Hasama.**

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. August 1938.)

Unter den Geweben des tierischen Organismus ist das Zentralnervensystem wie bekannt gegen verschiedene Pharmaca und Gifte am empfindlichsten. Zweifellos kann man diese große Empfindlichkeit der besonderen Art des chemischen Aufbaues des Zentralnervensystems zuschreiben, indem sein Zellprotoplasma reich an Lipoiden ist, die für die reizleitende bzw. -empfindende Funktion der Nervenzellen als wesentlich zu betrachten sind, während leichte Löslichkeit in Lipoiden charakteristisch für die wichtigsten und wirksamsten Nervengifte ist. Die Frage nach dem Wesen der Narkose haben Meyer und Overton mit dem erwähnten hohen Gehalt an Lipoiden im Zentralnervensystem und der Lipoidlöslichkeit der Nervengifte in Zusammenhang gebracht, indem sie behaupten, 1. daß leicht lipoidlösliche Stoffe narkotisch wirken und 2. daß je mehr die Lipoidlöslichkeit der lipoidlöslichen Stoffe ihre Wasserlöslichkeit übertrifft, desto stärker die narkotische Wirkung ist. Die Erweiterung unserer Kenntnis über den Wirkungsmechanismus der Nervengifte ist infolge der beschränkten, mittelbaren Beobachtungsverfahren nicht darüber hinaus gegangen, da bei allen Beobachtungen bisher nur die Zustandsänderung der vom Zentralnervensystem kontrollierten peripheren sensiblen bzw. motorischen Apparate Gegenstand der Untersuchung gewesen ist. Demgegenüber scheint die Aufzeichnung des Aktionsstrombildes heute die einzige geeignete Methode für die unmittelbare Beobachtung der Tätigkeitsänderung des keine sichtbare mechanische Veränderung zeigenden Hirngewebes zu bieten. Wenn man daher bei Applikation von Nervengiften in sinnreicher Weise vom Zellprotoplasma des isolierten Nervengewebes selbst als Zeichen des elektrischen Energiewechsels ein Aktionspotential ableiten und dessen Bild analysieren könnte, so würde man damit in der Bearbeitung der physiko-chemischen Grundlagen der Nervengiftwirkung ein jungfräuliches Forschungsgebiet erschließen. Diese Galvanometrie des Protoplasten verspricht ferner wohl auch zur Kenntnis der physiko-chemischen Eigenschaften des Protoplasten am Nervengewebe beizutragen. Daher nahm ich mir vor, zu beobachten, welches Elektroverhalten die Rinde des isolierten Großhirngewebes in vitro bei Applikation von Nervengiften zeigt. In dieser Richtung kann ich nur

eine einzige Arbeit, die von Amenomori[1], angeben, welche aber eine genaue Kritik und Diskussion der Versuchsergebnisse vermissen läßt.

Ferner habe ich untersucht, ob und wie das Großhirngewebe in den verschiedenen Stadien der physiologischen Reifung auf verschiedene Nervengifte bioelektrisch reagiert, indem ich das Großhirn von Kaninchenfoeti, von neugeborenen Kaninchen und von erwachsenen Kaninchen darauf beobachtete, was vielleicht die Frage beantworten kann, in welchem Stadium der physiologischen Reifung das Großhirn funktionsfähig und auf Nervengifte reaktionsfähig wird. In dieser Direktion hat meines Wissens bisher niemand gearbeitet.

Sofort nachdem das Kaninchen durch Luftembolie getötet worden war, wurde der Schädeldachknochen vorsichtig mit Knochenzange reseziert, um die beiden Großhirnhemisphären bloßzulegen. Die eine Großhirnhemisphäre wurde dann vorsichtig reseziert, ohne ihre konvexe Fläche irgendwie zu versehren. Die isolierte Großhirnhemisphäre wurde in eine Schale gelegt, deren Boden mehrfach durchlöchert war. Diese Schale wurde dann in einen Becher mit 100 ccm konstant körperwarmer Ringerlösung eingetaucht, der im Wasserbad stand, und so fixiert, daß die Hirnmasse von der Lösung gerade nur vollständig bedeckt war. Die Elektrophänomene an der Großhirnrinde wurden von zwei beliebigen Stellen derselben, besonders häufig von der Area striata bzw. der Area praecentralis granularis[2] (der Abstand zwischen den beiden Ableitungsstellen betrug 0,5 cm) mit den üblichen unpolarisierbaren Zn-ZnSO_4-Tonstiefelelektroden, die in mit Ringerlösung befeuchtete Wollfädchen ausliefen, oder mit Nadelelektroden (gewöhnliche verzinkte Stahlnähnadeln) zum Galvanometer von Cambridge-Modell abgeleitet. Bei Ableitung mit Nadelelektroden wurden die Spitzen der beiden Nadeln in die Hirnmasse 3 mm tief eingestochen. Die Ableitung mit Nadelelektroden ist kürzlich von Kornmüller[3] bzw. von Amenomori[1] erfolgreich vorgenommen worden, ebenso wie diejenige mit Zn-ZnSO_4-Tonstiefelelektroden. Die Empfindlichkeit der Platinsaite, deren Dicke 2 μ und deren Eigenwiderstand etwa 4600 Ω betrug, wurde so eingestellt, daß 1 mV-Spannung bei Ausschaltung des Versuchsmaterials einen Ausschlag des Saitenschattens von 4 cm auf der Registrierplatte ergab, die automatisch in der Kamera nach unten abglitt. Gleichmäßige Befeuchtung der beiden Ableitungsstellen fand andauernd statt, weil sonst stärkere Verdunstung der einen Ableitungsstelle gegenüber der anderen eintritt. Die etwaige unregelmäßige Befeuchtung bedingte manchmal eine spontane allmähliche Verschiebung des Saitenschattens nach oben bzw. nach unten, was verursachen konnte, daß die Saite nach einem Ausschlag infolge irgendeiner Aktion des Versuchsmaterials nicht genau zur Initiallage zurückkehrte, sondern entweder auf oder unter dem Anfangsniveau stehenblieb. Zum Vergleich des Elektroverhaltens der Rinde des isolierten Großhirns mit dem der Großhirnrinde in situ habe ich bisweilen bipolare Ableitung der Potentialschwankungen der in der natürlichen Lage bleibenden Großhirnrinde vorgenommen, wobei bald Zn-ZnSO_4-Tonstiefelelektroden, bald Nadelelektroden gebraucht wurden. Das zu applizierende Nervengift wurde mit 1 ccm Ringerlösung langsam in den Becher mit Ringerlösung eingegossen, in der die Hirnmasse eingetaucht war. Die Konzentration dieses Giftes in 1 ccm Ringerlösung wurde so reguliert, daß die verschiedenen Konzentrationen dieses Giftes in 100 ccm Ringerlösung im Becher aufgewiesen wurden.

[1] Amenomori, J.: Nagasaki Igakkai Zassi (jap.) **13**, 259 (1935). — [2] Vgl. Rose, M.: J. Psychol. u. Neur. **43**, 353 (1931). — [3] Kornmüller, A. E.: Fortschritte der Neurologie, Psychiatrie und ihrer Grenzgebiete, Jahrg. VII, Heft 9 u. 10, S. 6 (1935).

1. Zeigt die Rinde des isolierten Großhirns bei Reizruhe irgendeine Potentialschwankung?

Bei bipolarer Ableitung der Elektrophänomene von der ganzen Konvexität der Rinde des Großhirns in situ konnte ich, wie andere Forscher, wie Kornmüller[3] bzw. Fischer[4] u. a. beobachtet haben, bei Reizruhe überall spontane rhythmische bioelektrische Spannungsschwankungen bemerken. Die Stromschwankungen an der Area striata waren an Zahl durchschnittlich 2—3 pro Sekunde und betrugen in Potentialdifferenz 0,5—0,8 mV, während die an der Area praecentralis granularis im Rhythmus durchschnittlich 12—15 pro Sekunde und in Potentialdifferenz 0,5—1 mV betrugen.

Wenn man aber von der ganzen Konvexität der Rinde, einschließlich der Area striata und der Area praecentralis granularis des isolierten Großhirns, die Elektrophänomene ableitete, so ließen sich von nirgendwoher elektrische Potentialschwankungen erzielen. Das Elektrogramm verlief daher fast ohne Schwankung in gerader Linie (Abb. 1 und 2). Selten beobachtete ich winzige Ansätze zu trägen spontanen Schwankungen von bald rhythmischem, bald unrhythmischem Charakter. Daher kann man sagen, daß der elektrische Energiewechsel der Großhirnrinde, wenn man das Großhirn herausnimmt und in vitro hält, ausbleibt. Man könnte dieses Fehlen von spontanen Potentialschwankungen zum Teil darauf zurückführen, daß die nervöse Verbindung des Großhirns mit den peripheren Sinnesorganen getrennt war, deren stetige Erregung normalerweise zur Großhirnrinde fortgeleitet und an letzterer in Form von rhythmischen elektrischen Entladungen in rhythmische Erregungen transformiert wird.

2. Potentialschwankungen nach Applikation von Pikrotoxin.

Sofort nach Applikation von Pikrotoxinlösung in Konzentrationen von 1 : 100000—1 : 1000 traten unter anderen an der Area striata rhythmische Potentialschwankungen in Erscheinung. Die Typen der Schwankungen waren sehr vielgestaltig. Die einzelnen Schwankungen waren von verschiedener Amplitude und von wechselnder Dauer (Abb. 1). Bisweilen traten ziemlich träge größere Schwankungen auf, die von kleinen raschen Schwankungen überlagert waren. Ab und zu geschah eine allmähliche bzw. plötzliche Hebung oder Senkung des Elektrogrammniveaus. Mit der Zeit wurden die Stromschwankungen, an Amplitude zunehmend, immer frequenter. Sie waren 30—40 Minuten nach Applikation am frequentesten und von der größten Amplitude; bei einer Konzentration von 1 : 10000 betrug die Frequenz 40—60 pro Sekunde und die Potentialdifferenz war stärkstens 1,5 mV. Darauf wurden die Potentialschwankungen an Amplitude abnehmend träger, bis sie endlich völlig verschwanden,

---

[4] Fischer, M. H.: Pflügers Arch. **233**, 738 (1934).

was 1,5—2 Stunden nach Applikation der Fall war. Je stärker die Konzentration der angewandten Pikrotoxinlösung war, desto intensiver und

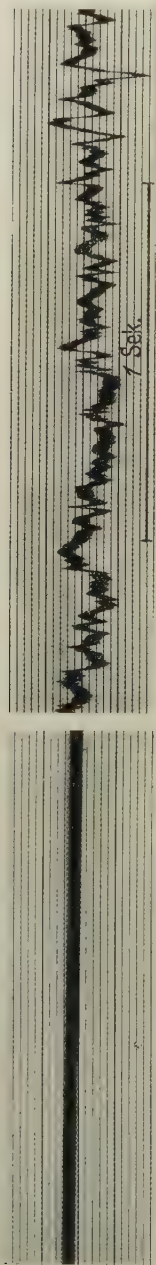


Abb. 1. Wirkung von Pikrotoxin. Rechts: Potentialschwankungen an der Area striata des isolierten Großhirns des Kaninchens nach 30 Minuten anschließend an die Applikation von Pikrotoxin in einer Konzentration von 1 : 10000. Links: Vor Applikation.

Abb. 2. Wirkung von Chloralhydrat. Rechts: Potentialschwankungen an der Area praecentralis granularis des isolierten Großhirns des Kaninchens nach 10 Minuten anschließend an die Applikation von Chloralhydrat in einer Konzentration von 1 : 10000. Links: Vor Applikation.

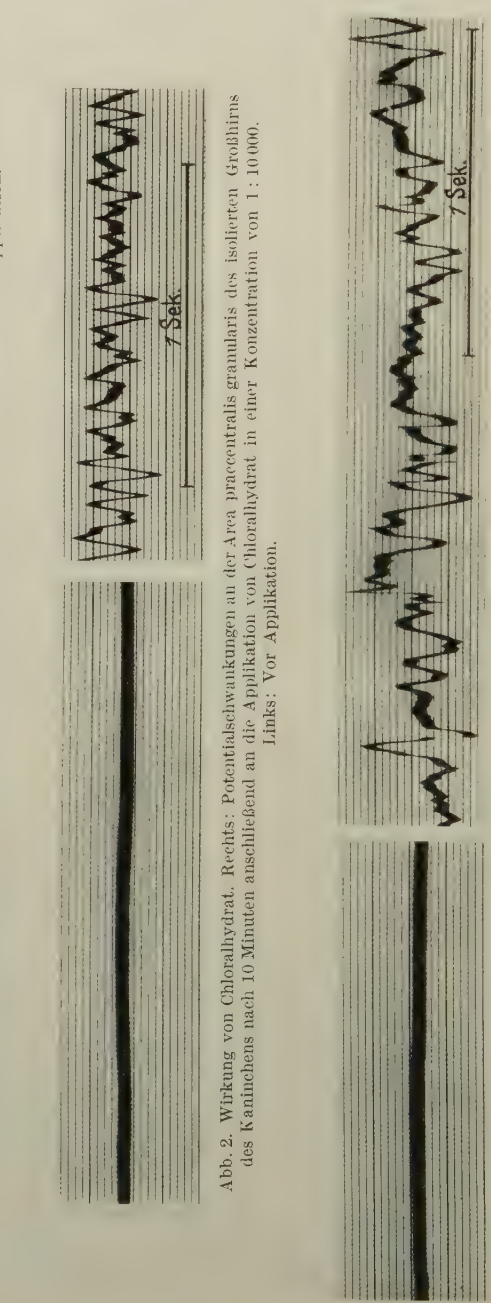


Abb. 3. Wirkung von Nikotintartrat. Rechts: Potentialschwankungen an der Area striata des isolierten Großhirns des Kaninchens nach 30 Minuten anschließend an die Applikation von Nikotintartrat in einer Konzentration von 1 : 10000. Links: Vor Applikation.

frequenter waren die Potentialschwankungen und desto früher verschwanden die Stromschwankungen.

Bei den obigen Potentialschwankungen mag es sich vielleicht nicht um Aktionsströme, sondern um eine Art Demarkationsströme handeln, weil das isolierte Großhirn bei veränderten physiologischen Bedingungen durch Chemikalien chemisch geschädigt wird, wobei die geschädigte Stelle gegenüber einer nicht geschädigten oder einer weniger geschädigten Stelle elektronegativ wird, ebenso wie eine aktive Stelle gegenüber einer inaktiven Stelle elektronegativ wird. Solche Demarkationsströme sind aber theoretisch nicht von rhythmischem, sondern von kontinuierlichem Charakter. Bekanntlich antworten die Nervenzellen in der Großhirnrinde auf verschiedene Reize, gleichviel, ob diese physiologisch oder pharmakologisch sind, mit rhythmischen elektrischen Entladungen, wenn die Nervenzellen in Erregung versetzt werden. Daher kann man die erzielten rhythmischen Stromschwankungen an der Großhirnrinde als Aktionsströme an ihr betrachten. Inbezug auf das zerebrale Elektroverhalten kann man mit Sicherheit sagen, daß Pikrotoxin auf die Nervenzellen zuerst erregend, dann aber lähmend wirkt. Das Ergebnis blieb prinzipiell dasselbe, selbst wenn die Elektrophänomene von anderen Zonen, wie z. B. von der Area praecentralis granularis usw. abgeleitet wurden. In Übereinstimmung mit meinen Ergebnissen hat Amenomori auch nach Pikrotoxinapplikation bei isoliertem Großhirn rhythmischen elektrischen Energiewechsel an demselben beobachtet.

3. Potentialschwankungen nach Applikation von Chloralhydrat.

Die Narkotica der Fettreihe, die in ihrem Molekül kein Halogen enthalten, üben auf das Zentralnervensystem neben narkotischer Lähmung auch eine vorübergehende stärkere pränarkotische Erregung aus. Im Gegensatz dazu ist die lähmende Wirkung der Narkotica der Fettreihe mit Halogen, deren Vertreter Chloroform und Chloralhydrat sind, sehr heftig und stürmisch, meist ohne pränarkotische Erregung aufzuweisen; selbst bei Eintritt von Erregung ist diese sehr schwach und von kürzerer Dauer. Nach der Narkosentheorie von Meyer und Overton lösen sich die lipoidlöslichen Narkotica, einschließlich des Chloralhydrats in dem Lipoid der Nervenzellen, das den Hauptbestandteil der Nervenzellen darstellt und also für ihre reizleitende bzw. -empfindende Funktion wesentlich ist. Also erregt anfangs dieses lipoidlösliche Chloralhydrat die physiologische Funktion des Lipoids, um es nachher zu betäuben.

Wenn man bei Ableitung von der Area striata auf das isolierte Großhirn Chloralhydrat in Konzentrationen von 1 : 100000—1 : 1000 wirken ließ, so traten rhythmische Potentialschwankungen auf, die von verschiedener Amplitude und von wechselnder Dauer waren; die Frequenz der Schwankung betrug im Fall von der Phase der stärksten Reizwirkung des Chlorylhydrats bei einer Konzentration von 1 : 10000 20—30 pro Sekunde. Bisweilen beobachtete ich ziemlich träge Schwankungen, auf welchen feinere Schwankungen überlagert waren. Ferner war plötzliche oder all-

mähliche Hebung bzw. Senkung des Elektrogrammniveaus zu ersehen. Solcher elektrischer Energiewechsel war innerhalb 10—20 Minuten nach Applikation am intensivsten und am frequentesten. Er wurde aber allmählich träger und schwächer, bis er endlich 60—90 Minuten nach Applikation völlig aufhörte. Das Resultat bei Ableitung von der Area praecentralis granularis oder von anderen Regionen war prinzipiell dasselbe wie bei Ableitung von der Area striara (Abb. 2). Diese Versuchsergebnisse sprechen dafür, daß das Chloralhydrat die Nervenzellen zuerst vorübergehend erregt, dann aber sie völlig lähmt. Mit Zunahme der Konzentration der angewandten Chloralhydratlösung wurden die Intensität und die Frequenz des elektrischen Energiewechsels auffallender, er verging aber früher. Wenn die Konzentration eine gewisse Grenze übertraf, so blieb der elektrische Energiewechsel an der Großhirnrinde aus. Zwischen dem elektrischen Energiewechsel der Großhirnrinde bei Applikation von Chloralhydrat und demjenigen bei Applikation von Pikrotoxin ist kein wesentlicher Unterschied zu erweisen. Nur verschwinden bei ersterem Fall die Potentialschwankungen früher als bei letzterem.

4. Potentialschwankungen nach Applikation von Nikotin.

Es wird allgemein angenommen, daß die zentrale Wirkung des Nikotins aus einer primären Reizung und einer darauf folgenden Lähmung der ganzen zerebrospinalen Achse von oben nach unten besteht; bei großer Dose fehlt manchmal die vorübergehende Reizung, nur reine Lähmung tritt zutage[5]. Sofort nach Applikation von Nikotintartrat in wirksamen Konzentrationen von 1 : 1000000—1 : 1000 traten an der ganzen Konvexität der Rinde des Großhirns in vitro rhythmische vielgestaltige Potentialschwankungen auf (Abb. 3). Die einzelnen Schwankungen waren von verschiedener Dauer und wechselnder Amplitude. Es gab auch Fälle, wo träge Schwankungen in Erscheinung traten, die auf der elektronegativen Seite kammartig von raschen feineren Schwankungen überlagert waren. Bisweilen sah ich auch eine plötzliche bzw. allmähliche Steigerung bzw. Herabsetzung des Elektrogrammniveaus. Die Schwankungen waren innerhalb 20—30 Minuten nach Applikation am frequentesten und stärksten, wurden dann aber graduell schwächer und weniger frequent, bis sie endlich erloschen. Die Frequenz der Stromschwankung an der Area striata bei einer Konzentration von 1 : 10000 betrug 30—50 pro Sekunde, während die Potentialdifferenz dabei stärkstens 1 mV war. Zwischen der Intensität der corticalen elektrischen Reaktion auf Nikotin und der Konzentration der angewandten Nikotinlösung besteht ein Parallelismus. Je stärker die Konzentration wurde, desto früher ging der elektrische Energiewechsel verloren. Das

[5] Vgl. Sollmann, T.: A manual of pharmacology, III. Aufl., S. 406. Philadelphia u. London 1927.

zerebrale Elektroverhalten an den verschiedenen Ableitungsstellen bei Applikation von Nikotin zeigte keinen qualitativen, aber nur quantitativen Unterschied. Da die Erregung der Nervenzellen in der Großhirnrinde mit rhythmischen Potentialschwankungen einhergeht, beruhen die abgeleiteten Potentialschwankungen auf der Erregung der Nervenzellen. Daher ruft Nikotin in den Nervenzellen zuerst Erregung und dann Lähmung hervor. Insoweit die Versuche sich auf die applizierten Hirngifte beziehen, zeigt die Großhirnrinde auf verschiedene Hirngifte keine spezifische bioelektrische Reaktion. Daher kann man aus der Veränderung der Aktionsstromkurve die Art des Giftes nicht erkennen.

5. In welchen Stadien der Reifung des Gehirns wird dasselbe auf Hirngifte reagierbar?

Die Frage, in welchen Stadien der physiologischen Reifung des Großhirns die Großhirnrinde auf verschiedene Hirngifte reagierbar wird, bleibt noch offen. In erster Linie muß beantwortet werden, ob und wie eine corticale elektrische Reaktion auf verschiedene Hirngifte im fötalen Leben oder kurz nach der Geburt eintritt. Dieses Problem ist in tokologischer Hinsicht mit der Frage eng verknüpft, ob und wie verschiedene bei Schwangeren applizierte Hirngifte auch auf das Gehirn des Foetus irgendwelchen Einfluß ausüben. Der Mangel an Literatur in dieser Richtung liegt daran, daß die unmittelbare Beobachtung der corticalen Reaktion auf Hirngifte durch die klassischen althergebrachten Methoden schwer gangbar ist. Eine Beobachtung des corticalen Elektroverhaltens des isolierten Gehirns könnte diese Lücke ausfüllen. Daher habe ich die corticale Reaktion des Großhirns beim Foetus auf verschiedene Hirngifte in bioelektrischer Hinsicht untersucht. Bei Ableitung der Elektrophänomene von den verschiedenen Teilen des isolierten Großhirns des Kaninchenfoetus in vitro habe ich in keinem Stadium des fötalen Lebens und nirgendwoher Stromschwankungen ableiten können, falls pharmakologische Reize fehlten. Auf verschiedene Hirngifte wie Pikrotoxin in Konzentrationen von 1 : 100000—1 : 1000, Chloralhydrat in Konzentrationen von 1 : 100000—1 : 1000 bzw. Nikotin in Konzentrationen von 1 : 100000—1 : 1000 zeigte die Rinde des isolierten Großhirns des Kaninchenfoetus mit unter 60 mm Scheitelsteißlänge — der nach meiner Untersuchung sowie nach Ando[6] jünger als der 25. Schwangerschaftstag ist — in vitro gar keine bioelektrische Reaktion.

Wenn man aber auf das isolierte Großhirn des 1—5 Tage vor der Geburt befindlichen Kaninchenfoetus mit über 60 mm Scheitelsteißlänge Pikrotoxin, Chloralhydrat bzw. Nikotin je in der oben erwähnten Konzentration wirken ließ, so konnte ich von der Großhirnrinde träge und unregel-

[6] Ando, S.: Kaibogaku Zassi (jap.) **3**, 761 (1930/31).

mäßige Stromschwankungen in kleinsten Spuren ableiten (Abb. 4). Der andeutungsweise vorhandene elektrische Energiewechsel verschwand aber einige Zeit nach Applikation der Hirngifte. Die bioelektrische Reaktion auf der ganzen Konvexität der Großhirnrinde zeigte dabei keinen wesentlichen Unterschied. Die elektrische corticale Reaktion des Großhirns des Kaninchenfoetus konnte manchmal auch völlig fehlen, und zwar häufig nach Applikation von Chloralhydrat. Der Zustand, daß Stromschwankungen nach Applikation von Hirngiften in kleinsten Spuren noch nachweisbar waren oder völlig fehlten, dauerte noch einige Tage nach der Geburt an. Am 6. Tage nach der Geburt schien die elektrische corticale Reaktion auf die obigen Hirngifte etwas verstärkt zu werden. 8—10 Tage nach der Geburt konnte ich nach Applikation der obigen Hirngifte bemerkenswerter-

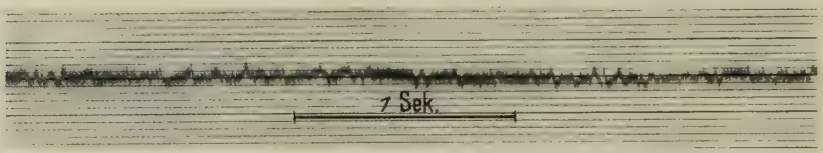


Abb. 4. Potentialschwankungen an der Area praecentralis granularis des isolierten Großhirns des einige Tage vor der Geburt befindlichen Kaninchenfoetus mit 75 mm Scheitelsteißlänge nach 10 Minuten anschließend an die Applikation von Pikrotoxin in einer Konzentration von 1 : 1000.

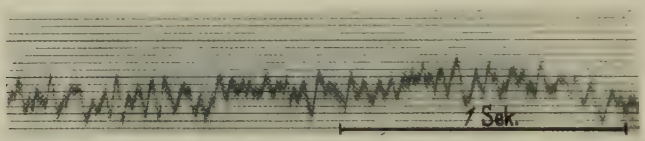


Abb. 5. Potentialschwankungen an der Area preacentralis granularis des isolierten Großhirns des 12 Tage alten Kaninchens nach 10 Minuten anschließend an die Applikation von Nikotintartrat in einer Konzentration von 1 : 10000.

weise von der ganzen Konvexität der Großhirnrinde ziemlich deutliche Potentialschwankungen ableiten, die denen des reifen Großhirns ähnlich sind (Abb. 5). Die Konzentration und Intensität der Schwankungen waren je nach den angewandten Giften und deren Konzentration verschieden. Ebenso wie beim reifen Großhirn nahmen die Potentialschwankungen an Amplitude und Frequenz mit Ablauf der Zeit nach der Applikation allmählich ab, bis sie endlich völlig vergingen. Je stärker die Konzentration der Hirngiftlösung war, desto frequenter und intensiver waren die Potentialschwankungen und desto früher vergingen sie, was auch beim reifen Großhirn der Fall ist. Mit der weiteren physiologischen Reifung des Großhirns nehmen die Amplitude und die Frequenz der Potentialschwankungen nach Applikation der obigen Hirngifte allmählich zu. In den verschiedenen Entwicklungsstadien des Großhirns zeigten die elektrischen corticalen

Reaktionen des Großhirns auf die Hirngifte keine Spezifität; die Reaktionen waren qualitativ dieselben, nur quantitativ verschieden. Nach den obigen Resultaten besteht für mich kein Zweifel daran, 1. daß die Großhirnrinde des Kaninchens in früheren fötalen Stadien auf verschiedene Hirngifte noch gar nicht reagierbar ist, während sie mehrere Tage vor der Geburt, wenn auch ganz minimal, doch reagierbar wird, und 2. daß dieser Zustand der Reaktion in kleinsten Spuren noch mehrere Tage nach der Geburt anhält, bis endlich ungefähr 10 Tage post partum die Großhirnrinde bemerkenswerterweise ziemlich deutlich und zwar in gewisser Ähnlichkeit mit der corticalen Reaktion des reifen Großhirns reagierbar wird. Mit der weiteren Zunahme der physiologischen Reifung wird die elektrische corticale Reaktion des Großhirns an Amplitude und Frequenz graduell auffallender. Nach Kornmüller[7] zeigt die Großhirnrinde des neugeborenen Kaninchens keinerlei spontane Stromschwankungen, während erst am 6. Tage post partum an fast allen Regionen der Großhirnrinde Stromschwankungen in kleinsten Spuren ableitbar werden. Daraufhin ist er der Ansicht, daß die Großhirnrinde des neugeborenen Kaninchens noch ganz inaktiv ist und erst, wenn das Kaninchen mehrere Tage alt ist, tätig wird. In fast vollkommener Übereinstimmung mit seiner Ansicht hat Tarchanow[8] nachgewiesen, daß die motorischen Hirnrindenzentren des Kaninchens einen elektrischen Reiz nicht vor dem 12. Tage post partum mit motorischen Reaktionen beantworten. Nach meinen Versuchsergebnissen wird aber die Großhirnrinde des Kaninchens im fötalen Leben schon mehrere Tage vor der Geburt andeutungsweise tätig und ist also auf verschiedene Hirngifte, wenn auch noch schwach, doch reagierbar. Das von mir erhobene Ergebnis, daß mehrere Tage post partum die Reagierbarkeit der Großhirnrinde auf verschiedene Hirngifte überraschend groß wird, stimmt mit der Ansicht von Kornmüller bzw. Tarchanow in gewisser Hinsicht überein.

Zusammenfassung.

1. Auf verschiedene Hirngifte wie z. B. Pikrotoxin, Chloralhydrat bzw. Nikotin zeigt das isolierte überlebende Kaninchengroßhirn in seiner ganzen Konvexität corticale bioelektrische Reaktion. Sofort nach Applikation obiger Gifte treten rhythmische Potentialschwankungen von verschiedener Amplitude und von wechselnder Dauer auf. Die Schwankungen werden aber allmählich schwächer und träger, bis sie endlich völlig vergehen. Die Großhirnrinde weist bei Applikation obiger Gifte in ihrem Elektroverhalten den einzelnen Giften gegenüber nicht qualitativ verschiedene, sondern nur quantitativ wechselnde Reaktionen auf. Je stärker die Konzentration der angewandten Giftlösung ist, desto stärker und frequenter ist die Schwankung und desto früher vergeht sie.

---

[7] Kornmüller, A. E.: Biological reviews **10**, 412 (1935). — [8] Zitiert nach Kornmüller, A. E.: Biological reviews **10**, 413 (1935).

2. Das isolierte Kaninchengroßhirn im fötalen Leben und besonders innerhalb mehrerer Tage vor der Geburt reagiert auf die obigen Hirngifte bioelektrisch, wenn auch nur in kleinsten Spuren. Dieser Hauch von Reaktion hält noch mehrere Tage nach der Geburt an, während die Großhirnrinde, wenn das Kaninchen mehrere Tage alt wird, auf die obigen Hirngifte bemerkenswerterweise mit auffallenden Potentialschwankungen reagierbar wird; dabei zeigten Art und Weise der corticalen Reaktion eine gewisse Ähnlichkeit mit denen des reifen Großhirns. Die obigen Resultate sprechen im zerebralen Elektroverhalten dafür, daß die Großhirnrinde des Kaninchenfoetus mehrere Tage vor der Geburt, wenn auch nur minimal, doch tätig und auf verschiedene Hirngifte reagierbar wird und ferner, daß die Großhirnrinde mehrere Tage nach der Geburt merklich aktiv und auf verschiedene pharmakologische Reize auffallend, und zwar ähnlich dem reifen Gehirn, reagierbar wird.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. S. Janssen.)

Zur Pharmakologie des Thyroxamins.

Von

Arnold Loeser und **V. M. Trikojus**

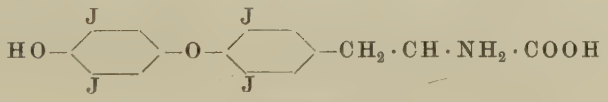
Departm. of Med., Univers. of Sydney.

Mit 1 Textabbildung.

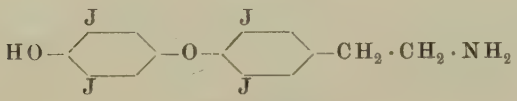
(Eingegangen am 12. Oktober 1938.)

I. Einleitung.

Thyroxamin ist seit seiner Herstellung durch Ashley und Harington[1] mehrfach Gegenstand pharmakologischer Untersuchungen gewesen. Die Beurteilung seiner Wirkungen ist jedoch nicht einheitlich. Nach den Angaben von Gaddum[2] wird der Stoffwechsel von Ratten nach zweimaliger subcutaner Injektion einer Suspension von 25 mg Thyroxamin pro kg Körpergewicht nicht sicher verändert. Dagegen fanden Abderhalden und Wertheimer[3] bei Ratten gelegentlich eine geringe Steigerung der Kohlensäureausscheidung. Ebensowenig übereinstimmend sind die Ergebnisse über die Wirkung auf die Metamorphose: Beschleunigung (Abderhalden und Wertheimer[4]) und Wirkungslosigkeit (Gaddum[5]) werden angegeben. Auf den Blutdruck soll Thyroxamin keinen Einfluß besitzen[6].



Thyroxin.



Thyroxamin.

Thyroxamin oder 3,5-Dijod-4(3′,5′-Dijod-4′-oxyphenoxy)-phenyläthylamin wurde von Harington[1] zuerst durch direkte Decarboxylierung von Thyroxin gewonnen. Infolge der schlechten Ausbeute wird die Verbindung jetzt allgemein durch Abspaltung von Kohlensäure aus Dijodthyronin und Jodierung des erhaltenen Amins in methylalkoholischer, alkalischer Lösung hergestellt. Nach den Angaben von Harington und eigenen Erfahrungen ist aber auch bei diesem Verfahren die Ausbeute wenig

[1] Ashley u. Harington: Biochem. J. **22**, 1445 (1928). — [2] Gaddum: J. of Physiol. **68**, 383 (1929/30). — [3] Abderhalden u. Wertheimer: Z. f. d. ges. exper. Med. **63**, 557 (1928). — [4] Abderhalden u. Wertheimer: l. c. — [5] Gaddum: J. of Physiol. **64**, 253 (1927/28). — [6] Gaddum: Ebenda **68**, 383 (1929/30).

befriedigend. Thyroxamin bildet farblose Nadeln, die in Wasser und organischen Lösungsmitteln schwer löslich, in verdünnter heißer Monochloressigsäurelösung oder in angesäuertem Alkohol bzw. Aceton löslich sind. Fp. 208° (unkorr.).

In früheren Untersuchungen[7] über die Beziehungen zwischen der chemischen Konstitution und dem physiologischen Effekt von Derivaten (Äthern) des Thyroxins konnten wir nachweisen, daß die Anwesenheit einer freien OH-Gruppe im Thyroxinmolekül keine Grundbedingung der Aktivität des Moleküls darstellt. Um auch die Bedeutung der Carboxylgruppe kennenzulernen, haben wir in der vorliegenden Arbeit die Wirkungen des Thyroxamins näher analysiert. Zu diesem Zwecke wurde der Einfluß dieser Verbindung auf das Körpergewicht, auf den Energiestoffwechsel und auf den Kohlehydratstoffwechsel der Leber von Meerschweinchen sowie auf die Metamorphose von Kaulquappen untersucht, und die erhaltenen Ergebnisse mit der Wirkung von Thyroxin verglichen.

II. Methodik.

Das zu den Versuchen benutzte Thyroxamin wurde aus Dijodthyronin hergestellt. Der Schmelzpunkt der erhaltenen Substanz war 208° (unkorr.). die Verbrennungswerte:

I.	2,273 mg	Substanz:	1,990 mg CO_2;	0,365 mg H_2O.	
II.	4,138 „	„	3,640 mg CO_2;	0,640 mg H_2O.	
III.	5,395 „	„	0,104 ccm N_2;	732 mm;	20°.
IV.	9,360 „	„	0,146 ccm N_2;	749 mm;	24°.
	5,384 „	„	6,840 mg AgJ.		

$C_{14}H_{11}O_2NJ_4$. Ber.: C 22,9 %. gef.: I 23,88 %. II 23,99 %:
H 1,51 %, I 1,80 %, II 1,73 %;
N 1,91 %, III 2,16 %, IV 1,76 %;
Jod 69,3 %, 68,7 %.

Wegen der Schwerlöslichkeit wurde das Thyroxamin in Wasser suspendiert und die Suspension den Versuchstieren (Meerschweinchen) neben ihrer Rüben- und Heukost einmal täglich mit der Pipette verabreicht. Die zugeführten Einzelmengen betrugen in allen Fällen 2 mg. Die Versuchszeit war 9 Tage.

Zur Untersuchung des Sauerstoffverbrauchs bedienten wir uns einer Apparatur, die an anderer Stelle ausführlich beschrieben worden ist[8]. Alle Versuche wurden aus den dort erwähnten Gründen an nicht hungernden Tieren vorgenommen. Die Bestimmung des Glykogengehaltes der Leber erfolgte nach entsprechender Vorbereitung der Tiere[9] nach der Methode von Pflüger[10].

Die Untersuchungen wurden im Winter 1937 und im Sommer 1938 ausgeführt.

---

[7] Loeser, Ruland u. Trikojus: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 664 (1938). — [8] Loeser, Ruland u. Trikojus: Ebenda **189**, 669 (1938). — [9] Eitel u. Loeser: Ebenda **167**, 383 (1932). — [10] Pflüger: Pflügers Arch. **129**, 362 (1909).

III. Die Wirkung auf das Körpergewicht.

Wie aus der unten wiedergegebenen Zusammenstellung (Tabelle 1) hervorgeht, hat Thyroxamin auf das Körpergewicht wachsender Meerschweinchen einen ähnlichen Einfluß wie Thyroxin selbst. Die zu diesen Versuchen verwendeten Tiere erhielten an 9 aufeinanderfolgenden Tagen täglich eine wässerige Suspension von 2 mg Thyroxamin bzw. 2 mg Thyroxin pro Tier per os. Alle Tiere wurden morgens zur gleichen Zeit gewogen und die Änderungen des Körpergewichtes laufend verfolgt.

Tabelle 1. Der Einfluß von Thyroxamin auf das Körpergewicht von Meerschweinchen.

Tier	Zugeführte Substanzmenge in mg		Körpergewicht in g												
			vor	während der Behandlung								nach			
Nr.	Tagesmenge	Gesamtmenge	0	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	14.	20. Tag
I. Thyroxamin.															
12 x	2	18	295	290	289	280	283	283	285	289	280	282	275	290	295
2225 x	2	18	297	304	290	282	289	287	285	285	275	280	295	320	335
46 x	2	18	220	220	203	192	193	189	182	189	185	188	195	210	230
93 x	2	18	250	259	248	235	235	235	229	232	217	220	215	250	245
2237 x	2	18	276	288	280	268	270	274	276	277	272	275	265	300	310
2091 x	2	18	238	247	238	222	225	219	206	211	205	208	210	235	260
83 x	2	18	298	308	288	282	288	278	275	282	281	277	280	310	320
52 x	2	18	257	251	254	240	240	240	233	234	227	234	245	245	255
II. Thyroxin.															
2061 t	2	18	235	231	234	237	239	229	236	225	217	221			
2001 t	2	18	253	248	250	255	254	243	250	235	238	240			
89 t	2	18	297	292	286	292	291	280	281	260	254	253			
18 t	2	18	213	212	212	215	216	199	208	193	193	192			

Die dem Thyroxin qualitativ ähnliche Wirkung von Thyroxamin machte sich auch im Allgemeinbefinden der Tiere deutlich bemerkbar. Alle zeigten vermehrte Freßlust, Haarausfall und stärkere Erregbarkeit als unbehandelte Vergleichstiere. Temperatursteigerungen und Durchfälle, wie sie gelegentlich bei längerer Verabreichung von Thyroxin auftreten, wurden nicht beobachtet. Die Sektion der Tiere wies außer einer schon makroskopisch erkennbaren Vergrößerung der Nebennieren keine Besonderheiten auf. Bei der histologischen Untersuchung der Schilddrüsen fand sich in beiden Versuchsreihen das bekannte Bild des ruhenden Organs.

IV. Die Wirkung auf den Energiestoffwechsel.

Den Einfluß von Thyroxamin auf den Energiestoffwechsel zeigt Tabelle 2. Aus ihr geht hervor, daß der Sauerstoffverbrauch bei täglicher Verabreichung einer wässerigen Suspension von 2 mg Thyroxamin pro Tier ohne wesentliche Latenzzeit bereits nach zweitägiger Zufuhr zunimmt. Dieser Anstieg setzt sich mit der Dauer der Behandlung fort, so daß am

Tabelle 2. Der Einfluß von Thyroxamin auf den Stoffwechsel von Meerschweinchen.
Dosierung: Vom 1.—9. Tage pro Tier und Tag 2 mg Thyroxamin in wässeriger Suspension per os.

Tier Nr.	O_2-Verbrauch in ccm pro g/Std. vor der Behandlung I.	II.	III.	IV.	Mittelwert	O_2-Verbrauch in ccm pro g/Std. bzw. in % des mittleren Ausgangswertes am 3., 6., 8., 10., 14. und 20. Tage des Versuchs: während der Behandlung 3. ccm	3. %	6. ccm	6. %	8. ccm	8. %	nach der Behandlung 10. ccm	10. %	14. ccm	14. %	20. ccm	20. %
2236 x	0,78	1,05	1,00		0,94	1,47	156,3	1,39	148,0	1,34	142,5	1,30	138,3	0,85	90,4	0,83	88,2
2244 x	0,95	0,89	0,89		0,91	0,98	107,6	1,31	143,9	1,27	139,5	1,28	140,5	0,89	97,8	0,51	56,1
2267 x	0,69	0,73	1,02		0,81	0,89	109,8	0,87	107,3	1,27	156,8	1,06	130,8	0,74	91,3	0,79	97,5
2285 x	1,09	0,97	0,91		0,99	1,01	102,0	1,59	160,6	1,42	143,4	1,34	135,3	0,85	85,8	0,90	90,9
12 x	1,10	1,01	1,20	1,03	1,09	1,24	113,7	1,34	123,0	1,27	116,5	1,49	136,6	1,21	111,0	1,14	104,6
93 x	1,07	1,18	1,01	1,02	1,07	1,00	93,4	1,39	129,9	1,51	141,1	1,60	150,0	1,25	116,8	1,03	96,2
2225 x	1,11	1,25	1,00	1,10	1,12	1,04	92,8	1,31	116,9	1,38	123,2	1,32	109,0	1,15	102,6	1,06	94,6
46 x	1,21	1,24	1,11	1,19	1,19	1,18	99,1	1,47	123,5	1,46	122,7	1,64	137,8	1,04	87,4	1,05	88,2
52 x	1,19	1,19	1,12	1,16	1,17	1,14	97,4	1,24	106,0	1,37	117,8	1,36	116,2	1,21	103,4	1,13	96,5
2237 x	1,16	1,13	1,15		1,15	1,28	111,3	1,41	122,6	1,46	126,9	1,58	137,4	1,14	99,1	1,17	101,7
83 x	1,25	1,06	1,12	1,23	1,17	1,31	111,9	1,36	116,2	1,43	122,2	1,51	129,5	1,13	96,5	1,11	94,8
2091 x	1,19	1,25	1,11	1,18	1,18	1,34	113,5	1,49	126,2	1,64	139,0	1,74	147,4	1,17	99,1	1,08	91,5
					100		109,1		127		132,6		134,1		98,4		91,7

8. Tage der Verabfolgung von Thyroxamin der Sauerstoffverbrauch 16—56 %, im Mittel 32,6 %, über den Ruhewerten liegt. Weiter ist aus der Tabelle zu ersehen, daß der Sauerstoffverbrauch nach Absetzen der Substanz innerhalb von 5 Tagen wieder auf die Norm zurücksinkt.

Um die Stoffwechselwirkung von Thyroxamin mit der in einer früheren Untersuchung[11] erhaltenen Wirkung von gleichen Mengen Thyroxin (pro Tier und Tag 2 mg als wässerige Suspension per os) vergleichen zu können, haben wir die Sauerstoffverbrauchszahlen in % des mittleren Ausgangswertes berechnet und die Mittelwerte für jede Substanz in Abb. 1 kurvenmäßig dargestellt. Der Verlauf der Kurven zeigt eindeutig, daß zwischen der Wirkung von Thyroxin und Thyroxamin nur quantitative Unterschiede bestehen. Beide Substanzen steigern den Stoffwechsel. Das Ausmaß dieser

[11] Loeser, Ruland u. Trikojus: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 675 (1938).

Steigerung ist jedoch beim Thyroxin größer als beim Thyroxamin. Daraus folgt, daß die Decarboxylierung des Thyroxins und die dadurch bedingte Veränderung seiner physikalisch-chemischen Eigenschaften zu einer Abnahme der biologischen Aktivität des Moleküls führen.

Die von Gaddum beschriebene Unwirksamkeit des Thyroxamins bei subcutaner Injektion einer Suspension von 25 mg/kg Körpergewicht hängt vermutlich mit der schlechten Resorbierbarkeit der Verbindung aus dem Unterhautgewebe zusammen. Besser scheint die Resorption von der Bauchhöhle aus zu erfolgen. Wir konnten nachweisen, daß bei täglicher intraperitonealer Injektion einer wässerigen Suspension von Thyroxamin (2 mg pro die) das Körpergewicht von Meerschweinchen ebenso abnimmt wie nach Verfütterung der Substanz.

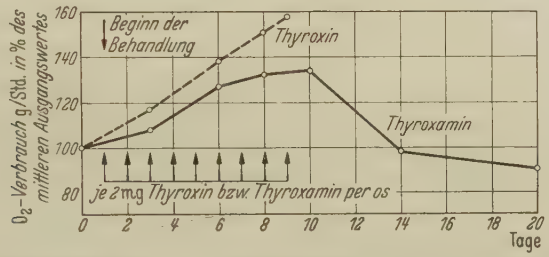


Abb. 1. Sauerstoffverbrauchswerte von Meerschweinchen in % des mittleren Ruhewertes nach Behandlung mit Thyroxin und mit Thyroxamin. Dosierung: 2 mg pro die in wässeriger Suspension per os. Behandlungszeit: 9 Tage. Abszisse: Zeit in Tagen. Ordinate: O_2-Verbrauch in ccm pro g/Std. in % des mittleren Ausgangswertes. Die obere Kurve (Thyroxin) entspricht den Mittelwerten von 4 Tieren, die untere Kurve (Thyroxamin) den Mittelwerten von 12 Tieren.

V. Die Wirkung auf den Kohlehydratstoffwechsel der Leber.

Ebenso wie der Energiestoffwechsel wird auch der Kohlehydratstoffwechsel der Leber durch Thyroxamin beeinflußt. Zum Vergleich der Wirkung von Thyroxin und Thyroxamin erhielten 3 Gruppen von je 4 Meerschweinchen täglich 2 mg Thyroxin, 3 weitere Gruppen von je 4 Tieren täglich 2 mg Thyroxamin pro Tier per os. Die Behandlungszeit betrug bei der ersten Gruppe 3, bei der zweiten Gruppe 6, bei der dritten Gruppe 9 Tage. Am 4., 7. und 10. Tage nach Beginn der Behandlung wurden die Tiere getötet und der Glykogengehalt der Leber bestimmt. Die Ergebnisse gibt Tabelle 3 wieder. Bei Berücksichtigung der von Eitel und Loeser[12] angegebenen Zahl für den Glykogengehalt der Leber normaler Meerschweinchen (2,59%), findet sich bei den mit Thyroxin behandelten Tieren eine Glykogenabnahme von etwa 93% (10. Tag), bei den mit Thyroxamin gefütterten Meerschweinchen eine solche von etwa 89% (10. Tag).

VI. Die Wirkung auf die Metamorphose.

Die entwicklungsfördernde Wirkung auf Amphibienlarven (Gudernatsche Reaktion) wurde an Kaulquappen von Wasserfröschen untersucht.

[12] Eitel u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **167**, 384 (1932).

Tabelle 3.

	Tier Nr.	Körpergewicht in g zu Beginn des Versuchs	Körpergewicht in g am Ende des Versuchs	Thyroxin in mg Tagesmenge	Thyroxin in mg Gesamtmenge	Gewicht der Leber in g	Leberglykogen in mg	Leberglykogen in %
I. Der Einfluß von Thyroxin (per os) auf den Glykogengehalt der Leber von Meerschweinchen.								
Gruppe 1. 4 Tage	10 t	224	235	2	6	5,70	82,5	1,44
	82 t	245	260	2	6	6,70	123,3	1,84
	91 t	225	237	2	6	6,50	23,2	0,35
	2213 t	258	270	2	6	6,80	152,9	2,24
							Mittelwert:	1,47
Gruppe 2. 7 Tage	22 t	209	208	2	12	5,70	48,9	0,85
	2009 t	262	255	2	12	6,90	81,1	1,17
	2084 t	237	230	2	12	6,00	48,9	0,81
	2191 t	252	250	2	12	5,95	40,8	0,68
							Mittelwert:	0,88
Gruppe 3. 10 Tage	2061 t	231	221	2	18	6,50	10,6	0,16
	2001 t	248	240	2	18	6,45	9,3	0,14
	89 t	292	253	2	18	bei der Vorbereitung †		
	18 t	212	192	2	18	5,30	9,3	0,18
							Mittelwert:	0,16
II. Der Einfluß von Thyroxamin (per os) auf den Glykogengehalt der Leber von Meerschweinchen.								
Gruppe 1. 4 Tage	2269 t	244	235	2	6	5,40	33,8	0,62
	73 t	270	270	2	6	7,80	135,8	1,74
	2092	255	259	2	6	7,00	116,3	1,66
	2077	241	239	2	6	6,70	64,4	0,95
							Mittelwert:	1,24
Gruppe 2. 7 Tage	95 t	235	237	2	12	5,25	16,0	0,30
	2056 t	205	205	2	12	5,30	13,8	0,26
	2064 t	229	218	2	12	6,00	34,3	0,57
	67 t	216	214	2	12	5,00	48,9	0,98
							Mittelwert:	0,53
Gruppe 3. 10 Tage	60 t	235	183	2	18	6,10	nicht nachweisbar	
	2079 t	226	196	2	18	5,20	24,6	0,47
	2299 t	224	193	2	18	5,05	35,5	0,70
	2055 t	252	173	2	18	5,82	nicht nachweisbar	
							Mittelwert:	0,29

Sämtliche Tiere stammten aus gleichzeitig abgelegten Laichballen und befanden sich alle im gleichen Entwicklungsstadium. Für die Versuche wurden je 10 Tiere in Glasbehälter in 300 ccm Wasser, das mit Quellmoos und Wasserpflanzen beschickt war, in einem hellen Raum gehalten. Das Wasser wurde täglich erneuert. Als Futter dienten getrocknete und zerriebene Daphnien. An den eigentlichen Versuchstagen wurden das Quellmoos und die Wasserpflanzen entfernt und dem Wasser nur die zur Untersuchung benötigten Substanzen zugesetzt.

Zu Vergleichszwecken prüften wir außer Thyroxamin noch Thyroxin und den kürzlich von Loeser und Trikojus[13] dargestellten Thyroxin-0-Methyläther. Von allen Substanzen wurden zunächst Stammlösungen 1 : 200000 hergestellt und jeweils 1,5 ccm, 3 ccm, 6 ccm bzw. 60 ccm dieser Lösungen zu 300 ccm Wasser zugesetzt, so daß die erhaltenen Konzentrationen in den Glasschalen 1 : 40, 1 : 20, 1 : 10 bzw. 1 : 1 Millionen betrugen.

Thyroxinlösung 1 : 200000: 5 mg Thyroxin wurden in 10 ccm Wasser unter Zusatz von einigen Tropfen n/10 NaOH gelöst und die Lösung mit Wasser auf 1000 ccm aufgefüllt.

Thyroxaminlösung 1 : 200000: 5 mg Thyroxamin wurden mit 4 ccm salzsäurehaltigem Alkohol [20 ccm Alkohol (50%ig) und 3 ccm n HCl] kurz erwärmt und die abgekühlte klare Flüssigkeit mit Wasser auf 1000 ccm aufgefüllt.

Thyroxin-0-Methyläther-Lösung 1 : 200000: 5 mg Thyroxin-0-Methyläther wurden mit 2 ccm n NaOH erhitzt und die heiße Lösung mit Wasser auf 1000 ccm aufgefüllt.

Die Ergebnisse der Versuche wurden in der Weise ausgewertet, daß nach Ablauf einer bestimmten Frist (8 Tage) alle Tiere einer Versuchsreihe in flachen, mit Narkoseflüssigkeit gefüllten Glasschalen, die mit Millimeterpapier unterlegt waren, nach Größe und Grad ihrer Entwicklung geordnet wurden. Dabei ergab sich, daß Thyroxamin und Thyroxin-0-Methyläther die Metamorphose ebenso stark beschleunigen wie Thyroxin. Auffallend ist, daß Thyroxin von den Froschlarven besser vertragen wird als die beiden andern Substanzen. Bei der in gleicher Weise wie die Hauptversuche angeordneten Untersuchung der benutzten Lösungsmittel, ließ sich unter den angegebenen Bedingungen kein sicherer Einfluß auf die Metamorphose feststellen.

Eine eindeutige Veränderung des Blutdruckes (Katze) durch Thyroxamin, ließ sich wegen der Eigenwirkung der benutzten Lösungsmittel im akuten Versuch nicht nachweisen.

Zusammenfassung.

Es wurde der Einfluß von Thyroxamin auf das Körpergewicht, auf den Energiestoffwechsel und auf den Kohlehydratstoffwechsel der Leber untersucht und die erhaltenen Ergebnisse mit der Wirkung von Thyroxin verglichen. Dabei zeigte sich, daß zwischen der Wirkung beider Substanzen nur quantitative, aber keine qualitativen Unterschiede bestehen.

Die Untersuchungen wurden mit Mitteln der Freiburger Wissenschaftlichen Gesellschaft ausgeführt

[13] Loeser, Rulandu. Trikojus: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 665 (1938)

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Köln.
(Direktor: Prof. Dr. J. Schüller.)

Über die Beziehungen zwischen Schilddrüse und Hypophysenvorderlappen bei B_1-Avitaminose.

Von

Gerhart Hundhausen und **Ernst Schulze***.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. Oktober 1938.)

Über die Bedeutung des Vitamin B (insbesondere des Vitamin B_1) für die normale Tätigkeit der Schilddrüse besteht trotz zahlreicher an diese Frage gewandter Arbeiten keine Klarheit. Die einen Autoren deuten ihre Befunde bei B-Avitaminosen im Sinne einer Hypothyreose, die anderen im Sinne einer Hyperthyreose.

Für eine Hypothyreose sprechen Gaswechselversuche an Tauben und Ratten (Abderhalden[1], Verzár und Mitarbeiter[2], Asoda[3], Shinobe[4]). Auch der Gaswechsel der einzelnen Zelle ist bei Vitamin B-Mangel herabgesetzt (Hess[5], Ahlgren[6]). Bei der histologischen Untersuchung der Schilddrüsen B-arm ernährter Ratten und Meerschweinchen wird teils eine schleichende Zerstörung des Drüsenparenchyms mit bindegewebiger Verödung beschrieben (Kihn[7]), teils große atrophische Follikel mit abgeflachtem Epithel, Vermehrung und auch Verminderung der kolloidalen Substanz, Herabsetzung der Färbbarkeit mit Eosin (Parhon-Ştefănescu und Coban[8], Uotila[9], Ueno[10], Schneider[11]). Das Gewicht der Schilddrüsen wurde bei B-Mangel ebenfalls verringert gefunden (Ueno[10]). Ueno untersuchte gleichzeitig die Hypophysen der B-avitaminotischen Tiere und fand eine Atrophie des Hypophysenvorderlappens (HVL), wobei vor allem die Zahl der basophilen Zellen abgenommen hatte. Auch klinisch

---

* Zur Zeit Assistent der med. Universitätsklinik Göttingen.

[1] Abderhalden: Pflügers Arch. **182**, 133 (1920); **185**, 141 (1920); **187**, 80 (1921); **198**, 167 (1923); **202**, 395 (1924); **202**, 405 (1925; Dtsch. med. Wschr. 1937, S. 1141. — [2] Verzár u. Vásárhelyi: Pflügers Arch. **206**, 675 (1924); Arvay: Ebenda **214**, 449 (1926). — Zih: Ebenda **214**, 449 (1926); Verzár: Schweiz. med. Wschr. **1932**, S. 57. — [3] Asoda: Biochem. Z. **143**, 387 (1923). — [4] Shinobe: ref. Chem. Zbl. 1931, I, S. 1468. — [5] Hess: Hoppe-Seylers Z. **117**, 284 (1921); **119**, 176 (1922). — [6] Ahlgren: Skand. Arch. Physiol. (D.) **44**, 186 (1923). — [7] Kihn: in Avitaminosen von Steppund György 1927, S. 159. — [8] Parhon-Stefănescu u. Coban: Ber. Physiol. **85**, 89 (1935). — [9] Uotila: Ebenda **102**, 568 (1937). — [10] Ueno: Ebenda **85**, 387 (1935). — [11] Schneider: Klin Wschr. **1938**, S. 542; Dtsch. Z. Chir. **250**, 167 (1938).

finden sich bei B_1-Avitaminosen Zeichen einer herabgesetzten Schilddrüsentätigkeit (Kühnau und Stepp*[12]).

In Wiederholung eines Versuchs von Elmer, Giedosz und Scheps[17] findet Schneider[11], daß Vitamin B_1 die durch thyreotropes Hormon (th. H.) erzeugbare Aktivierung der Schilddrüse nicht verhindern kann; er schließt daraus, daß die Ruhigstellung der Schilddrüse bei B_1 Mangel hypophysär bedingt sei. Vitamin B_1 hat nach Schneider darüber hinaus gerade die umgekehrte Eigenschaft, die Wirkung des th. H. derart zu verstärken, daß die mit der Kombination th. H. + Vitamin B_1 behandelten Tiere unter dem Bilde des akuten Schilddrüsentodes zugrunde gehen. Gentzen und Mohr[18] konnten das nicht bestätigen, finden aber gleichfalls daß Vitamin B_1-Zufuhr nicht in der Lage ist, die Aktivierung der Schilddrüse durch th. H. zu verhindern.

Alle bisher aufgeführten Untersucher gehen davon aus, daß die Schilddrüse durch Vitamin B_1-Mangel ruhiggestellt wird. Im Gegensatz hierzu finden sich nun eine ganze Reihe Arbeiten, in denen von einer B_1-Mangel-Hyperthyreose berichtet wird.

So wird z. B. die Verminderung des Gaswechsels bei vitamin-B-armer Ernährung nicht auf das Fehlen von Vitamin B bezogen, sondern auf Inanition[19]. Histologisch zeigten Taubenschilddrüsen bei Vitamin B-Mangel das Bild deutlicher Aktivierung (Castaldi und Muntoni[20]). Bei B_1-frei ernährten säugenden Ratten und bei Kaninchen wurde Vergrößerung und Gewichtszunahme der Schilddrüse beobachtet (Sandberg und Holly[21], Daniel und White[22]). Vitamin B-Mangel führt bei Tauben und Kaninchen zu einer erheblichen Steigerung des Blutjods (Fiori[23], Abo[24]). Lugolsche Lösung wirkt nach Aalsmer[25] bei Beri-Beri ähnlich günstig wie bei Basedow, woraus auf eine Dysfunktion der Schilddrüse bei Beri-Beri ähnlich wie bei letzterer Krankheit geschlossen wird. In einer zusammenfassenden Arbeit vertritt dann vor allem A. Meyer[26] die Ansicht, daß klinisch eine große Ähnlichkeit zwischen B-Avitaminose zumal im Beginn und dem Krankheitsbild der Thyreotoxikose besteht.

---

* Über einen Antagonismus von B_1 und Thyroxin siehe die Arbeiten 11 und 12, sowie 13—16.

[12] Kühnau u. Stepp: Münch. med. Wschr. **1933**, S. 87; Stepp, Kühnau u. Schröder: Vitamine **1936**, S. 40. — [13] Nishikawa: Ber. Physiol. **68**, 690 (1932). — [14] Cowgill u. Palmieri: Americ. J. Physiol. **105**, 146 (1933). — [15] Sure u. Smith: J. Nutrit. (Am.) **7**, 547 (1934); Sure u. Buchanan: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **33**, 77 (1935); Sure u. Buchanan: J. Nutrit. (Am.) **13**, 513 (1937). — [16] Shimazono: Erg. inn Med. **39**, 1 (1931). — [17] Elmer, Giedosz u. Scheps: C. r. Soc. Biol. **126**, 33 (1937). — [18] Gentzen u. Mohr: Klin. Wschr. **1938**, S. 1243. — [19] Groebbels: Ebenda **1922**, S. 1548, 2130; Hoppe-Seylers Z. **131**, 214 (1923); Gulik: Americ. J. Physiol. **68**, 131 (1924); Galvao u. Cardoso: Pflügers Arch. **229**, 422 (1923). — [20] Castaldi u. Muntoni: Ber. Physiol. **100**, 244 (1937). — [21] Sandberg u. Holly: J. biol. Chem. (Am.) **99**, 547 (1933). — [22] Daniel u. White: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) S. 27; ref. Chem. Zbl. 1930, II, S. 1720. — [23] Fiori: Ber. Physiol. **100**, 244 (1937). — [24] Abo: ref. Chem. Zbl. 1935, S. 3686. — [25] Aalsmer: Klin. Wschr. **1932**, S. 2111. — [26] Meyer, A.: Klin. Wschr. **1937**, S. 1593.

Er nimmt eine B-Mangelhyperthyreose auf der Grundlage an, daß vermehrt th. H. vom HVL ausgeschüttet wird. Ein experimenteller Beweis wird allerdings hierfür nicht geliefert.

Schließlich sei eine Arbeit von Carpenter und Sharpless[27] erwähnt, nach der Vitamin B-Mangel allein ohne Einfluß auf die Rattenschilddrüse sein soll.

Die Unstimmigkeiten, die aus der vorstehenden Übersicht hervortreten, veranlaßten uns, zu untersuchen, wie sich die Rattenschilddrüse bei Vitamin B_1-Mangel verhält, und daran anschließend durch unmittelbare Auswertung das Verhalten des HVL hinsichtlich seiner thyreotropen Wirksamkeit bei B_1-Avitaminose zu prüfen, um festzustellen, ob die eine oder andere — sei es die von Schneider[11] oder von A. Meyer[26] vermutete — Beziehung zwischen Schilddrüsentätigkeitszustand und HVL bei B_1-Mangel besteht.

Methodik.

Wir benützten 36 männliche und weibliche Albinoratten im Gewicht von 150—300 g, alle von einem Züchter bezogen. Das mittlere Gewicht betrug 210 g. Zur Erzeugung der B_1-Avitaminose wählten wir die von Kinnersley, Peters und Reader[28] angegebene Diät für erwachsene Ratten. Die zur Entwicklung einer reinen B_1-Avitaminose notwendige Zufuhr von Faktoren des B-Komplexes geschieht hierbei durch Zugabe autoklavierter Hefe, in welcher B_1 zerstört ist. Wir benützten Cenovis-Brauereitrockenhefe, die im Autoklaven 5 Stunden auf 120° erhitzt wurde. Das Casein wurde von anhaftenden Spuren Vitamin B_1 durch langdauerndes Wässern und Alkoholextraktion befreit[29]. 6 männliche und 5 weibliche Tiere wurden als Kontrollen gehalten, die übrigen 12 männlichen und 13 weiblichen Tiere wurden auf Beri-Beri-Diät gesetzt. Die Kontrollen erhielten genau die gleiche Diät nur mit dem Unterschied, daß sie statt autoklavierter Hefe unbehandelte Cenovis-Trockenhefe erhielten. Die Versuche fanden statt in den Monaten Februar-März und Mai-Juli.

Nachdem die Tiere 6—7 Wochen auf dieser Kost gehalten und deutliche Beri-Beri-Symptome aufgetreten waren, wurden sie durch Nackenschlag getötet und Schilddrüsen und Hypophysen frei präpariert. Das Frischgewicht wurde auf der Bangschen Torsionswaage bestimmt. Eine Sektion der Körperhöhlen und Organe wurde angeschlossen. Die Schilddrüsen wurden in Formalin fixiert, in Paraffin eingebettet und geschnitten (10 μ). Die Aktivität wurde nach einzelnen Stufen des histologischen Bildes bewertet (Kampelmann[30]). Es bedeutet dabei Stufe I (sehr aktiv), Stufe II (aktiv), Stufe III (mäßig aktiv), Stufe IV (wenig aktiv) und Stufe V (fast inaktiv).

Zur Auswertung des Gehaltes der Rattenhypophysen an th. H. wurden infantile Meerschweinchen benützt, deren Schilddrüse normalerweise histologisch das Bild einer Ruheschilddrüse bietet. Die verschiedenen Stufen der Aktivität der Meerschweinchenschilddrüsen werden mit den Buchstaben *p* (fast inaktiv), *q* (wenig aktiv), *r* (mäßig aktiv), *s* (aktiv), *t* (vermehrt aktiv) und *u* (sehr aktiv) bezeichnet

---

[27] Carpenter u. Sharpless: J. Nutrit. (Am.) **13**, 235 (1937). — [28] Kinnersley, Peters u. Reader: Biochemic. J. (Brit.) **24**, 1820 (1930); ref. Bomskow, Methodik d. Vitaminforschg. 1935, siehe dort auch weitere Literatur. — [29] Bomskow: Methodik d. Vitaminforschg. 1935, S. 168. — [30] Kampelmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 141 (1937); dort auch genauere Angaben über die einzelnen Stufen.

(Heyl und Laqueur [31], Kampelmann [32]). Die Hypophysen wurden sofort nach Tötung der Ratten aseptisch entnommen und, nachdem sie gewogen waren, mit physiologischer Kochsalzlösung in einer kleinen Reibschale zu einer Emulsion von etwa 1—$1^1/_2$ ccm verarbeitet. Die Emulsion wurde in eine 2 ccm fassende Spritze mit feiner Nadel aufgezogen und jeweils einem infantilen Meerschweinchen im Gewicht von 150—200 g intraperitoneal injiziert. Am nächsten Tage erhielt das gleiche Empfängertier die Hypophyse einer zweiten Spenderratte. Die Spendertiere hatten beide das gleiche Geschlecht. Es wurden so auf 6 infantile Empfängertiere die Hypophysen der normalen Ratten übertragen und auf 13 die Hypophysen der Beri-Beri-Ratten. Außerdem dienten 4 Meerschweinchen als unbehandelte Kontrolltiere. Am 3. Tage wurden die Meerschweinchen durch Nackenschlag getötet. Die Schilddrüsen wurden präpariert, gewogen, in Formalin fixiert, in Paraffin eingebettet und geschnitten (10 μ). Die Sektion ergab stets, daß der Stichkanal und das Peritoneum reizlos waren. Es war keine vermehrte Flüssigkeit im Peritonealraum nachzuweisen.

Versuchsergebnisse.

Bei den auf der oben beschriebenen Diät gehaltenen Tieren entwickelten sich die bekannten Symptome der Beri-Beri. Abb. 1 und 2

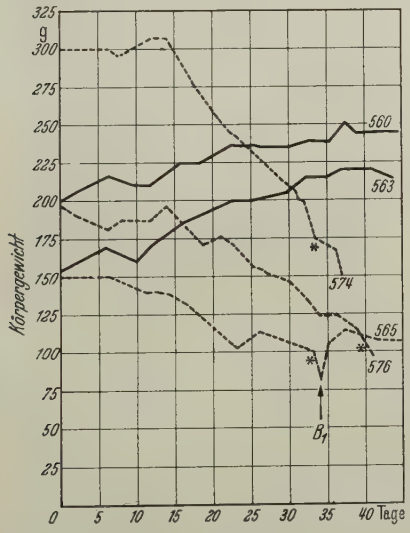


Abb. 1. Männliche Ratten.
——— Normale Tiere.
····· B_1 avitaminotische Tiere.
▲ B_1 = Zugabe von 50 γ B_1.
* Auftreten von Krampfanfällen.

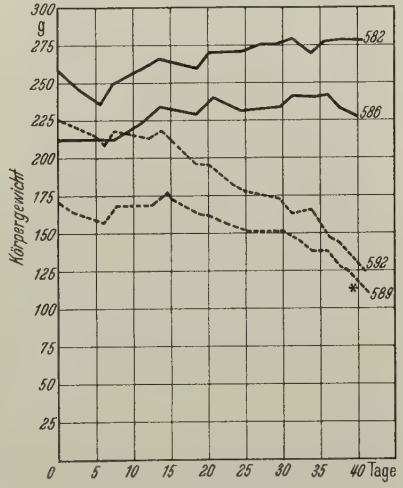


Abb. 2. Weibliche Ratten
——— Normale Tiere.
····· B_1 avitaminotische Tiere.

geben einige Gewichtskurven wieder. Nach 10—15 Tagen trat deutlicher Gewichtsabfall ein, die Freßlust ließ nach, bald betrug die Nahrungsaufnahme nur noch 40—50 % der Kontrollen (statt im Mittel 25 g pro

[31] Heyl u. Laqueur: Arch. internat. Pharmacodynam. **49**, 338 (1934), dort auch genauere Angaben über die einzelnen Stufen. — [32] Kampelmann: Naunyn Schmiedebergs Arch. **184**, 144 (1937).

Tag und Ratte nur noch 10—12 g). Der Gewichtsverlust betrug teilweise 120—150 g pro Tier (über 50 % des Anfangsgewichtes), im Mittel 85—100 g. Dagegen hielten die Kontrolltiere bei gleicher Kost, die jedoch B_1 enthielt, ihr Gewicht konstant oder nahmen an Gewicht zu. Ihre Freßlust war während der ganzen Versuchszeit ungemindert dieselbe. Am Ende der fünften, Anfang der sechsten Woche traten bei einigen Beri-Beri-Tieren die ersten ausgesprochen nervösen Symptome auf. Es kam zu den bekannten Zwangsbewegungen (Manegebewegungen) und spontanen Krampfanfällen mit Abspreitzen vor allem der hinteren Extremitäten und Roll- und Wälzbewegungen. Besonders deutlich war die Schwäche der vorderen und hinteren Extremitäten und der Nackenmuskulatur, so daß der Kopf nicht erhoben werden konnte. Die Zustände entsprachen weitgehend den von Scheunert[33] veröffentlichten Bildern. Solche ausgesprochenen Krampfanfälle überlebten die Tiere meist nur wenige Stunden, teilweise aber auch bis zu einem Tag.

Zum Nachweis, daß diese Symptome sicher nur auf das Fehlen des Vitamin B_1 zu beziehen sind, wurde einem Tier mit ausgesprochenen Krampfanfällen und Zwangsbewegungen reines B_1 (Betaxin Bayer: 50 γ subcutan) zugeführt. Schon am nächsten Tage war es bis auf leichte Schiefhaltung des Kopfes nach rechts geheilt. Die Gewichtskurve zeigt deutlich das Einsetzen der Erholung mit starkem Gewichtsanstieg (Abb. 1, Nr. 565) und den bekannten allmählich wieder einsetzenden Abfall. Damit traten dann auch wieder nervöse Erscheinungen auf.

Bekanntlich entwickeln nicht alle auf Beri-Beri-Kost gehaltenen Tiere ausgesprochene nervöse Symptome mit Krampfanfällen und spastischen Kontrakturen. Der Prozentsatz betrug in unseren Versuchen 40 % (10 von 25 Tieren). Es ist dies eine recht hohe Prozentzahl, da z. B. Chick und Roscoe[34] in ihren Versuchen mitteilen, nur in wenigen Fällen ausgesprochene nervöse Symptome gesehen zu haben. Die Tiere seien schon vor Entwicklung der nervösen Symptome an Inanition zugrunde gegangen. In den Fällen, in denen keine ausgesprochenen nervösen Erscheinungen auftraten, zeigte sich die Beri-Beri durch den Gewichtssturz, ataktischen, schwankenden Gang und große allgemeine Schwäche vor allem der hinteren Extremitäten und der Nackenmuskulatur. Die Schwere der nervösen Symptome ging nicht unbedingt der Größe des Gewichtsverlustes parallel. So zeigten auch Tiere, die über 50 % des Anfangsgewichts und über 150 g verloren hatten, keine Krampfanfälle und andere mit einem Gewichtsverlust von nur 30 % und etwa 60 g ausgesprochen spastische Erscheinungen. Bei den Beri-Beri-Tieren waren deutliche Untertemperaturen festzustellen (32,3—38,6°).

Nach Ausbildung deutlicher polyneuritischer Symptome oder großer Schwäche wurden in der ersten Zeit die Tiere dauernd kontrolliert, so daß

[33] Scheunert: Krkh.forsch. **4**, 389 (1927). — [34] Chick u. Roscoe: Biochem. J. (Brit.) **21**, 698 (1927).

die Tiere unter unseren Augen verendeten und die Hypophysen sofort in der beschriebenen Weise auf infantile Meerschweinchen übertragen werden konnten. Der Exitus ist nur zweimal ohne unser Beisein eingetreten. Da seit Eintritt des Todes nur kurze Zeit verstrichen war (2 bis 5 Stunden), konnten diese Hypophysen noch übertragen werden. Schließlich wurden, nachdem bei einer großen Anzahl polyneuritische, bei den anderen aber Symptome großer Schwäche aufgetreten waren, Ende der 7. Woche an zwei aufeinanderfolgenden Tagen alle Tiere getötet und ihre Hypophysen übertragen.

Rattenschilddrüsen.

Bei der histologischen Auswertung zeigten sich die Schilddrüsen der Beri-Beri-Ratten deutlich weniger aktiv als die der Kontrolltiere. Die

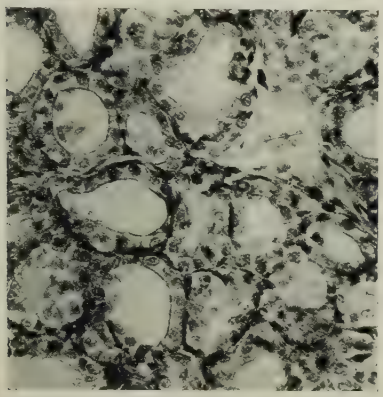


Abb. 3.
Normale Rattenschilddrüse (Vergr. 275fach).

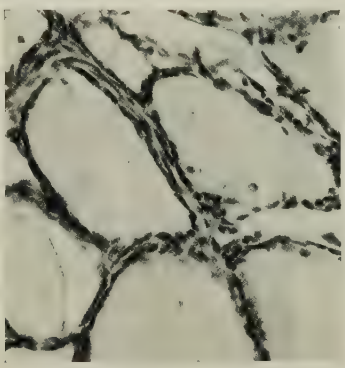


Abb. 4. B_1 avitaminotische Rattenschilddrüse (Vergr. 275fach).

Schilddrüsen der normalen Tiere waren recht aktiv. Ihre mittlere Bewertung entsprach der Stufe III (Abb. 3). Die Follikel waren mittelgroß, die Epithelkerne rund. Über den Kernen war ein niedriger bis recht

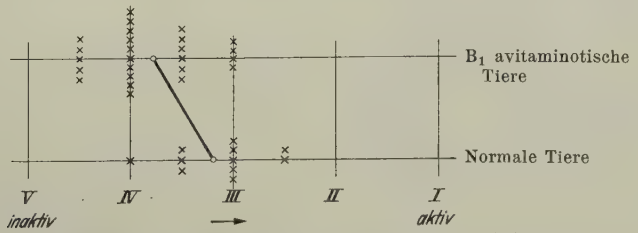


Abb. 5. Verminderung der Aktivität der Rattenschilddrüse bei B_1-Avitaminose.
× = Einzeltier. ⊙ = Mittelwert der Gruppen.

deutlicher Protoplasmasaum nachweisbar, der jedoch meist Kerndicke nicht erreichte. Die Kolloidmenge war mäßig viel. Dagegen entsprachen die Schilddrüsen der Beri-Beri-Tiere angenähert der Stufe IV (Abb. 4). Die Follikel waren mittelgroß bis groß, die Kolloidmenge war reichlich.

Die Epithelkerne waren flach bis oval, nur teilweise rund. Ein Protoplasmasaum über den Kernen fehlte vollkommen oder war nur angedeutet. Eine Übersicht über die Verteilung der einzelnen Befunde bei den beiden Versuchstieren gibt Abb. 5. Die Mittelwerte der Normaltiere errechnen sich daraus zu 3,2, die der Beri-Beri-Tiere zu 3,8.

Rattenhypophysen.

Ihr Gehalt an th. H. wurde durch die Aktivierung infantiler Meerschweinchenschilddrüsen gemessen. Die Schilddrüsen unbehandelter infantiler Meerschweinchen zeigen bekanntlich das Bild einer Ruheschild-

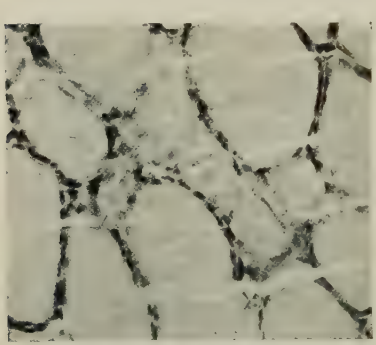


Abb. 6. Normale infantile Meerschweinchenschilddrüse (Vergr. 275fach).

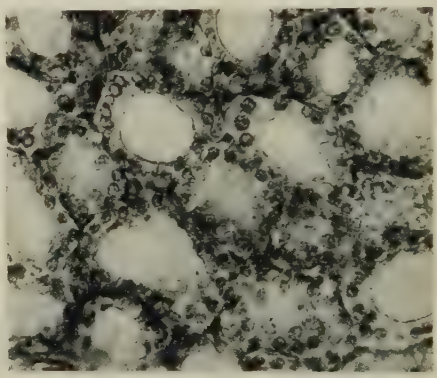


Abb. 7. Meerschweinchenschilddrüse nach Übertragung von normalen Rattenhypophysen (Vergr. 275fach).

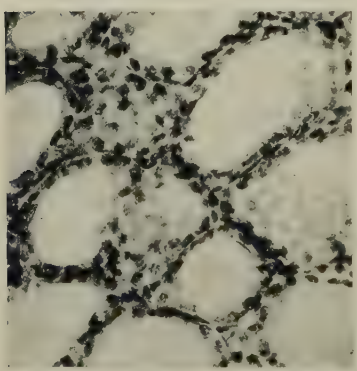


Abb. 8. Meerschweinchenschilddrüse nach Übertragung B_1 avitaminotischer Rattenhypophysen (Vergr. 275fach).

drüse, entsprechend der Stufe *q* (Abb. 6), platte Follikelzellen mit plattem, teilweise fast linearem Kern. Protoplasmasaum über den Kernen fehlt. Übertragung normaler Rattenhypophysen führt zu einer ausgesprochenen Aktivierung. Die Schilddrüsen dieser Meerschweinchen entsprechen etwa der Stufe *s* (Abb. 7). Die Epithelzellen sind stark verdickt, ihre Kerne sind rund. Über den Kernen findet sich ein deutlicher Protoplasmasaum, der teilweise Kerndicke erreicht. Dagegen zeigen die Schilddrüsen der Tiere, die die Hypophysen der Beri-Beri-kranken Ratten erhielten ein deutlich weniger aktives Bild, das im Mittel nur der Stufe *r* entpricht (Abb. 8). Die Zellen sind dicker als bei den unbehandelten Tieren, erreichen aber nicht die Dicke der mit normalen Hypophysen behandelten Tiere. Die Epithelkerne sind

oval. Ein Protoplasmasaum ist nur angedeutet. Die Schilddrüse steht in ihrer Aktivität etwa in der Mitte zwischen unbehandelten Meerschweinchenschilddrüsen und solchen, die normale Rattenhypophysen erhalten haben. Die Abb. 9 zeigt die Verteilung der einzelnen gefundenen Werte bei den drei Versuchsserien. Die errechneten Mittelwerte sind eingezeichnet.

Trägt man in einem Diagramm „Rattenschilddrüse/Meerschweinchenschilddrüse", in dem — von links nach rechts aktiver werdend — die Stufen V

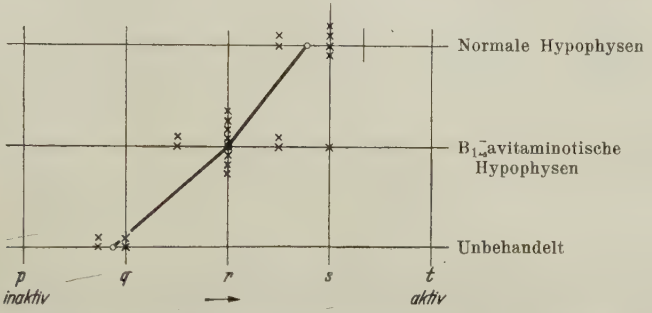


Abb. 9. Veränderung der Aktivität der infantilen Merschweinchenschilddrüse bei Übertragung normaler und B_1 avitaminotischer Rattenhypophysen. × = Einzeltier. ⊙ = Mittelwert der Gruppe.

bis I und *p* bis *u* eingezeichnet sind, die gefundenen Werte der Beri-Beri-Rattenschilddrüsen und normaler Kontrollen sowie die den Rattenhypophysen entsprechenden Meerschweinchenschilddrüsen ein, so sieht man

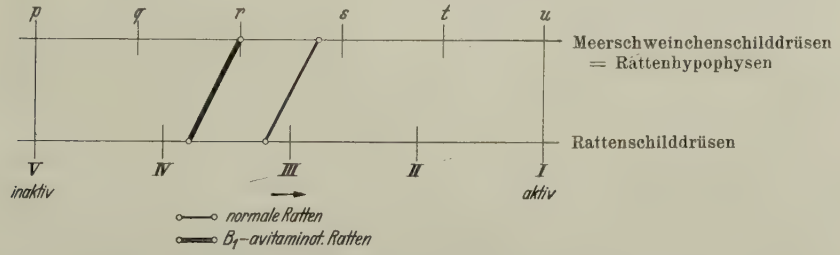


Abb. 10. Vergleich der Aktivität der Schilddrüsen und des Gehaltes der Hypophysen an thyreotropem Hormon bei normalen und B_1 avitaminotischen Ratten.

bei den Beri-Beri-Tieren eine Parallelverschiebung der Werte nach der inaktiven Seite (Abb. 10). Es bedeutet dies, daß zur inaktivierten Beri-Beri-Schilddrüse eine wenig aktive Hypophyse gehört, die vermindert thyreotropes Hormon produziert.

Zwischen dem Gewicht inkretorischer Drüsen und ihrer Funktion bestehen enge Beziehungen. So kann man z. B. die thyreotrope Wirksamkeit von Substanzen an der Gewichtszunahme von Meerschweinchenschilddrüsen prüfen (Rowland und Parkes[35], Junkmann und

[35] Rowland u. Parkes: Biochem. J. (Brit.) **28**, 1829 (1934), zit. nach Burn: Biolog. Auswertungsmethoden 1937, S. 127.

Loeser[36]). Burn[37] gibt dieser Methode den Vorzug vor der histologischen. Heyl und Laqueur[38] dagegen fanden sie nicht genügend spezifisch. Wir untersuchten an unserem Material, welche Unterschiede zwischen normalen Kontrollen und Beri-Beri-Schilddrüsen und -Hypophysen sowie bei Übertragungen auf infantile Meerschweinchen an deren Schilddrüsen sich gravimetrisch nachweisen ließen, und in wieweit sie mit den histologischen Befunden übereinstimmten.

Die gefundenen Mittelwerte zeigen die Tabellen 1 und 2. Die Grenzen ($\pm$ 2 m) geben den doppelten mittleren Fehler (m) an oder nach Michaelis[39] „die praktische Fehlergrenze", d. h. das wahre Resultat wird unter 100 Versuchen 95,4mal in diese Grenzen fallen. Ein gefundener Unterschied ist dann als signifikant anzusehen, wenn er jenseits dieser Grenzen liegt. (Der mittlere Fehler des Resultats $m = \frac{\mu}{\sqrt{n}}$; der mittlere Fehler der Beobachtung $\mu = \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n-1}}$; d — scheinbare Fehler der Beobachtung = Abweichung, welche jede einzelne Beobachtung von dem arithmetischen Mittel zeigt. n = Anzahl der Beobachtungen.)

Tabelle 1. Gewichte von Schilddrüsen und Hypophysen bei normalen und B_1-avitaminotischen Ratten.

Ratten (150–300 g Gewicht)	Hypophysen		Schilddrüsen	
	absolutes Gewicht in mg	%	absolutes Gewicht in mg	%
♀ Normal (5)	15,9 $\pm$ 2,14	100 $\pm$ 13	21,1 $\pm$ 4,08	100 $\pm$ 19
♀ B_1 Avitaminose (13) ..	8,6 $\pm$ 1,38	– 46 $\pm$ 9	14,4 $\pm$ 1,62	– 32 $\pm$ 11
♂ Normal (6)	6,9 $\pm$ 1,11	100 $\pm$ 16	16,6 $\pm$ 1,85	100 $\pm$ 11
♂ B_1 Avitaminose (12)..	5,9 $\pm$ 0,97	– 15 $\pm$ 14	12,3 $\pm$ 2,07	– 26 $\pm$ 12

Zunächst zeigen die Werte der Tabelle 1 einen auffallenden Unterschied zwischen den Organgewichten normaler männlicher und weiblicher Ratten, vor allem der Hypophysen, die bei den weiblichen Tieren über das Doppelte schwerer sind. Bei den Beri-Beri-Tieren sind die Gewichte von Schilddrüse und Hypophyse in den Mittelwerten deutlich gesenkt, so daß man daraus auf eine verminderte Funktion dieser Organe schließen kann. Signifikant sind diese Unterschiede bei den Schilddrüsen sowohl der männlichen wie der weiblichen Tiere, bei den Hypophysen jedoch nur bei den weiblichen Tieren. Die histologisch festgestellte Ruhigstellung der Schilddrüsen der Beri-Beri-Tiere findet durch die gravimetrische Untersuchung also eine Bestätigung.

[36] Junkmann u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 474 (1938). — [37] Burn: Biolog. Auswertungsmethoden 1937, S. 127. — [38] Heyl u. Laqueur: Arch. internat. Pharmacodynam. **49**, 341 (1934). — [39] Michaelis: Einführung in die Mathematik 1927.

Tabelle 2. Schilddrüsengewichte infantiler Meerschweinchen.

Infantile Meerschweinchen (150—200 g Gewicht)	Schilddrüsen	
	absolutes Gewicht in mg	%
Normale, unbehandelte Tiere (4)	27,2 ± 3,52	100 ± 13
Übertragung normaler Rattenhypophysen (6)	37,4 ± 7,3	137 ± 27
Übertragung B_1-avitaminotischer Rattenhypophysen (13)	30,1 ± 3,18	111 ± 12

Tabelle 2 gibt die mittleren Gewichte der infantilen Meerschweinchenschilddrüsen wieder. Das Gewicht der Schilddrüsen wird durch Übertragung von normalen Rattenhypophysen deutlich gesteigert. Überträgt man dagegen Hypophysen von Beri-Beri-Tieren, so findet nur eine wesentlich geringere Gewichtszunahme der Schilddrüsen statt. Dabei sind die Unterschiede nicht signifikant. Zwischen unbehandelten Tieren und Empfängertieren normaler Hypophysen sind sie fast noch als signifikant zu bezeichnen.

Vergleicht man aber hiermit die Ergebnisse der histologischen Untersuchung, so zeigen sie eine bemerkenswerte Übereinstimmung mit dem Ergebnis der gravimetrischen Methode, so daß man geneigt sein kann, die relativ weiten Grenzen, die die Ergebnisse dieser Methode nur beschränkt verwertbar erscheinen lassen, der zu geringen Tierzahl zuzuschreiben. Die gravimetrische Methode verlangt zur mathematisch statistischen Auswertung ein großes Tiermaterial. Sie ist aber in der Technik einfacher und in der Beurteilung (Wägung) objektiver. Die histologische Methode kommt mit geringerem Tiermaterial aus, da sie empfindlicher in der Beurteilung der Schilddrüsen ist. Die Technik ist jedoch schwieriger und umständlicher und auch die Auswertung subjektiven Schwankungen unterworfen. Beide Methoden sind also etwa gleichwertig. Es sei erwähnt, daß im einzelnen Falle nicht immer eine Parallele von histologischem Bild, z. B. der einzelnen Rattenschilddrüse und ihrem Gewicht gegeben war bzw. dem Gewicht der übertragenen Hypophysensubstanz, histologischer Schilddrüsenbewertung und Schilddrüsengewicht infantiler Meerschweinchen, in dem Sinne, daß die schwerste Schilddrüse auch die aktivste war. Erst in den Mittelwerten lieferten beide Methoden übereinstimmende Ergebnisse.

Besprechung der Ergebnisse.

Bei unseren Untersuchungen an Rattenschilddrüsen stellten wir histologisch und gravimetrisch eine deutliche Inaktivierung und Ruhigstellung der Schilddrüse nach langdauernder B_1-freier Ernährung und nach Auftreten typischer Erscheinungen der Beri-Beri fest. Wir befinden uns dabei in Übereinstimmung mit Kihn[7], Parhon, Stefänescu und Coban[8] Uotila[9], Ueno[10] und Schneider[11], die alle eine Ruhigstellung der Schilddrüsen B_1-arm ernährter Versuchstiere sahen. Es erhob sich jetzt die Frage, ob diese verminderte Tätigkeit der Schilddrüse auf eine B_1-Mangel-

wirkung auf den der Drüse übergeordneten HVL zu beziehen sei. Schneider nimmt einen solchen Zusammenhang an. Allerdings liefert er für diese Behauptung nur einen indirekten Beweis, indem er zeigt, daß die durch B_1-Mangel ruhiggestellte Rattenschilddrüse durch th. H. wieder aktiviert werden kann und Zugabe von B_1 ähnlich wie Zufuhr von th. H. wirkt. Dieser letzte Befund konnte von Gentzen und Mohr[18] im Gaswechselversuch nicht bestätigt werden. Eine Klärung dieser Frage konnte nur die direkte Auswertung der Hypophyse B_1-avitaminotischer Tiere auf ihren Gehalt an th. H. bringen. Hierbei zeigte sich nun, daß der Gehalt des HVL an th. H. B_1-frei ernährter Ratten deutlich vermindert ist. Heyl und Laqueur[40] haben in mehreren Tabellen Beziehungen zwischen gereichter Menge th. H. und den sich ergebenden Veränderungen an der Schilddrüse festgestellt. Unter Benutzung dieser Tabellen beträgt die Abnahme der thyreotropen Wirksamkeit des HVL von Beri-Beri-Ratten etwa 40—50%. Es ergibt sich der Schluß, daß die Inaktivierung der Schilddrüsen der auf der beschriebenen B_1-freien Kost gehaltenen Ratten durch eine verminderte Produktion des HVL an th. H. bedingt ist.

Zusammenfassung.

1. Bei auf B_1-freier Kost gehaltenen Ratten wird die Schilddrüse ruhiggestellt.

2. Es wird gezeigt, daß der Gehalt des HVL an th. H. vermindert ist, und hierauf die Ruhigstellung der Schilddrüse zu beziehen ist.

[40] Heyl u. Laqueur: Arch. internat. Pharmacodynam. **49**, 351 (1934).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg.

Der Einfluß von Harnstoff auf die Strophanthinwirkung am isolierten Froschherz.

Von

Fritz Heim.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. Oktober 1938.)

Nach den Untersuchungen von H. Fischer[1] geht die Bindung von Digitalisglykosiden an das isolierte Froschherz in zwei Phasen vor sich. Während in der ersten sehr kurzen Phase das Glykosid reversibel an den Herzmuskel adsorbiert wird, wird es in der zweiten Phase durch eine chemische Reaktion irreversibel an den Herzmuskel fixiert. Für die Annahme, daß die Bindung der Digitalisglykoside als Adsorptionsvorgang aufzufassen ist, sprechen die Befunde von H. Fischer[1], Heyden[2] und Walter[3], daß neben der intakten Herzmuskulatur auch getrocknete Herzmuskelpulver und andere Adsorbentien wie Tierkohle, Aluminiumhydroxyd und Bolus Digitalisglykoside zu adsorbieren vermögen. Nachdem Straub[4] erstmalig für das Strophanthin nachgewiesen hatte, daß bis zum Eintritt des tonischen Herzstillstandes eine bestimmte absolute Menge des Glykosids vom Herzmuskel irreversibel gebunden wird, konnte diese Tatsache auch für eine Reihe anderer Digitalisglykoside bestätigt werden. Während H. Fischer[1] die Ansicht vertritt, daß die Wirkungsintensität der Digitalisglykoside allein von der absolut gebundenen Glykosidmenge abhängt, nimmt Straub[4] auch eine Abhängigkeit der Wirkung von der Konzentration an. Es scheint nach den Untersuchungen von Oliario und Rothlin[5] über den Bindungsmechanismus von Scillaren A — wenigstens am Kaltblüterherzen — so zu sein, daß die vom Herz gebundene Glykosidmenge abhängig ist von der in der Nährflüssigkeit herrschenden Glykosidkonzentration. Daher kann aus kleinen Volumina hoher Giftkonzentrationen, die zum tonischen Stillstand führende Glykosidmenge aufgenommen werden, während aus niedrigen Konzentrationen nur dann die wirksame Grenzdosis aufgenommen werden kann, wenn die dem Herzen angebotenen Volumina, d. h. Glykosidmengen, entsprechend groß sind, weil dann eine Abnahme der Giftkonzentration infolge der Giftbindung an den Herzmuskel verhältnismäßig gering ist. Nachdem also als erwiesen gelten darf, daß die Wirkungsintensität von der absoluten

[1] Naunyn-Schmiedebergs-Arch. **130**, 111 (1928). — [2] Ebenda **164**, 295 (1932). — [3] Biochem. Z. **92**, 267 (1918). — [4] Ebenda **28**, 392 (1910). — [5] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **131**, 138 (1928).

gebundenen Giftmenge abhängig ist, und durch Erhöhung der Konzentration bzw. durch Erhöhung des dargebotenen Volumens, d. h. durch Erhöhung der dargebotenen Giftmenge bei gleichbleibender Konzentration, eine erhöhte Aufnahme durch den Herzmuskel erzielt werden kann, erhebt sich die Frage, ob nicht bei gleichbleibender Konzentration und gleichem Volumen das Bindungsvermögen des Herzmuskels für Digitalisglykoside durch Vergrößerung der zur Adsorption befähigten Oberfläche des Herzmuskels gesteigert werden kann. Denn für alle Adsorptionsvorgänge besteht eine quantitative Abhängigkeit der Größe der Adsorption von der Größe der spezifischen Oberfläche des adsorbierenden Körpers.

Es wurde von uns[6] in früheren Arbeiten mitgeteilt, daß Harnstoff das Wasseraufnahme- und Wasserbindungsvermögen von Eiweiß erhöht. Auch das Quellungsvermögen von Muskelgewebe konnte durch Harnstoff gesteigert werden. Nach den Untersuchungen von Beck und Schormüller[7] wird die Löslichkeit, nach Angaben von Williams und Watson[8] der Dispersitätsgrad von Eiweiß durch Harnstoff erhöht. Es liegt daher nahe, anzunehmen, daß in Gegenwart von Harnstoff durch erhöhte Wasseraufnahme die Muskelkolloide, speziell die Eiweißkörper, eine feinere Verteilung innerhalb ihres Strukturverbandes erfahren, wodurch eine Vergrößerung der spezifischen Oberfläche hervorgerufen wird. Diese Annahme möge durch die folgenden Untersuchungen experimentell belegt werden.

Methodik.

Die Versuche wurden zum Teil an dem nach Straub isolierten Froschherz und zum anderen Teil am isoliert durchströmten Froschherz gemacht. Letztere Methode gestattet an Hand des Minutenvolumens die Arbeitsleistung laufend zu messen. Die Versuchsanordnung ist bereits in einer früheren Arbeit[9] beschrieben worden. Zu den Versuchen wurden große männliche Temporarien verwendet. Es wurde Strophanthin „Boehringer" benutzt.

Versuche.

Wurde der aus 1 ccm Ringerlösung bestehenden Nährflüssigkeit eines Straub-Herzens 10—30 Minuten vor Zusatz von Strophanthin Harnstoff zugesetzt, so zeigte sich, daß noch in Gegenwart von 0,05% Harnstoff in der Ringerlösung 0,5 γ Strophanthin „Boehringer" in relativ kurzer Zeit zu einem tonischen Kammerstillstand führten. Die gleiche Menge Strophanthin bewirkte an einem unvorbehandelten Herzen innerhalb der Beobachtungszeit von 3 Stunden zwar eine Abnahme der Hubhöhe unter gleichzeitiger Verkürzung der diastolischen Erschlaffung, aber niemals einen tonischen Herzstillstand. Dazu waren zumindest 1,5 γ Strophanthin

[6] Biochem. Z. **291**, 88 (1937); Naunyn-Schmiedebergs-Arch. **191**, 212 (1938). — [7] Kolloid-Z. **80**, 333 (1937). — [8] Nature (Brit.) **1**, 506 (1937). — [9] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 214 (1937).

nötig. Abb. 1 bringt einen Versuch, aus dem der Einfluß von Harnstoff auf die Wirkungsintensität und Wirkungsgeschwindigkeit von Strophanthin

Abb. 1.

Abb. 2.

zu ersehen ist. 21 Minuten vor Zugabe von 0,5 γ Strophanthin werden der Ringerlösung 0,05 % Harnstoff zugesetzt. Bereits 1 Minute nach Zugabe des Strophanthins beginnt die Wirkung und führt innerhalb

42 Minuten zum tonischen Stillstand der Kammer, der durch mehrmaliges Auswaschen mit Ringerlösung in geringem Maße wieder aufzuheben ist. Bemerkenswert ist, daß bei dem in Gegenwart von Harnstoff durch Strophanthin hervorgerufenen Kammerstillstand niemals eine Verlangsamung der Schlagzahl der Kammer oder ein Herzblock vorausgegangen sind. Eine Strophanthinwirkung auf die Vorhöfe war ebenfalls niemals zu beobachten. Die Vorhöfe schlugen selbst 15 Stunden nach Eintritt des tonischen Kammerstillstandes noch in regelmäßiger Folge weiter. Daß jedoch der durch Harnstoff hervorgerufenen Verstärkung der Wirkungsintensität des Strophanthins nach unten hin eine Grenze gesetzt ist, möge der in Abb. 2 wiedergegebene Versuch zeigen. 22 Minuten nach Zugabe von 0,05% Harnstoff zu der aus Ringerlösung bestehenden Nährflüssigkeit wurden dem Kanüleninhalt 0,25 γ Strophanthin zugesetzt. Nach einem

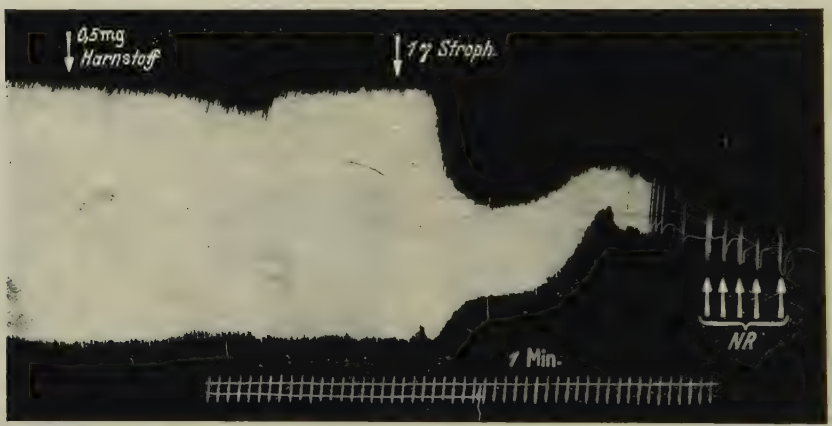


Abb. 3.

vorübergehenden geringfügigen Anstieg der Fußpunkte nimmt die Hubhöhe jedoch allein auf Kosten der Kammersystole ab und bleibt 100 Minuten auf dieser Höhe. 100 Minuten nach der ersten Zugabe von 0,25 γ Strophanthin werden abermals 0,25 γ Strophanthin dem Kanüleninhalt zugesetzt. Nahezu im gleichen Augenblick tritt eine Verkürzung der Fußpunkte ein und 36 Minuten nach Zugabe der zweiten Strophanthinmenge von 0,25 γ geht die Kammer in tonischen Stillstand über. Eine Strophanthinmenge von 0,25 γ läßt also auch in Gegenwart von Harnstoff eine tonische Wirkung auf die Kammermuskulatur nicht mehr erkennen. Sie bewirkt einzig eine Abnahme der Hubhöhe auf Kosten der Kammersystole. Verdoppelt man die Strophanthinmenge auf 0,5 γ, so tritt sofort eine Tonussteigerung der Kammermuskulatur auf, die in kürzester Zeit zum tonischen Stillstand führt. Nach den Angaben von Straub[4] und v. Weizsäcker[10] beträgt die beim Herzstillstand gebundene Strophanthinmenge 0,2 bzw. 0,25 γ. Es wäre demnach in Gegenwart von Harnstoff

[10] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **81**, 247 (1917).

nur die doppelte Menge der wirksamen Grenzdosis von Strophanthin nötig, um in relativ kurzer Zeit einen tonischen Kammerstillstand hervorzurufen. Während bei Einwirkung von 0,5 γ Strophanthin der tonische Kammerstillstand wenigstens in beschränktem Maße reversibel war, konnte er bei Einwirkung von 0,1 γ Strophanthin in Gegenwart von Harnstoff durch nachträgliches Auswaschen mit Ringerlösung nicht mehr aufgehoben werden, wie aus der Abb. 3 hervorgeht. Aus dieser Abbildung ist gleichzeitig die mit der Strophanthinerhöhung einhergehende Verkürzung der Wirkungsdauer zu ersehen. Bereits 27 Minuten nach Zugabe von 1,0 γ Strophanthin kommt es zum irreversiblen Kammerstillstand.

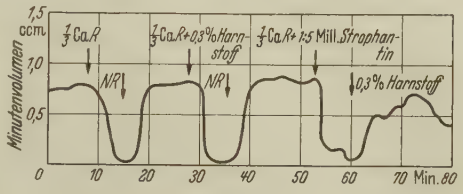


Abb. 4.

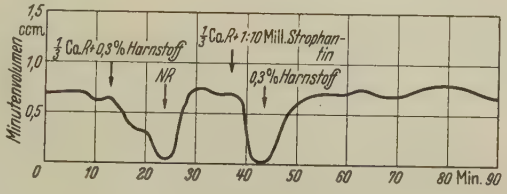


Abb. 5.

Es war von Interesse, zu untersuchen, ob auch therapeutische Strophanthindosen in ihrer Wirkungsintensität durch die Gegenwart von Harnstoff in der Nährflüssigkeit heraufgesetzt werden können. Um die therapeutische Strophanthinwirkung feststellen zu können, wurden die isolierten Herzen mit Ca-armer Ringerlösung durchströmt und das Minutenvolumen laufend gemessen. In Abb. 4 ist ein derartiger Versuch wiedergegeben. Es ist aus dem Verlauf der Kurve zu ersehen, daß während der Durchströmung mit Ca-armer Ringerlösung das Minutenvolumen nahezu auf den Nullwert herabsinkt. Der Zusatz von 0,3 % Harnstoff zur Ca-armen Ringerlösung bleibt ohne Einfluß auf die Leistungsfähigkeit der Kammer. Setzt man der harnstofffreien Ca-armen Ringerlösung Strophanthin in einer Verdünnung 1 : 5 Millionen zu, so bleibt eine therapeutische Wirkung aus. Erst in Gegenwart von 0,3 % Harnstoff in der Durchströmungsflüssigkeit kann Strophanthin in wirksamen Mengen von der Kammermuskulatur adsorbiert werden und eine therapeutische Wirksamkeit entfalten, die sich in der Zunahme des Minutenvolumens kundtut. Aus Abb. 5 ist zu ersehen, daß Strophanthin in einer Verdünnung 1 : 10 Millionen in Gegenwart von Harnstoff in der Ca-armen Ringerlösung das hypodyname Herz zur vollen Leistungsfähigkeit zurückführen kann. Daß die Verdünnung 1 : 20 Millionen die unterste Grenze ist, an der durch Harnstoff

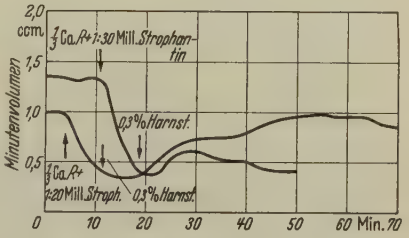


Abb. 6.

eine therapeutische Strophanthinwirkung zu erzielen ist, geht aus Abb. 6 hervor. Denn wie aus der gleichen Abbildung zu ersehen ist, bleibt Strophanthin in Verdünnung 1 : 30 Millionen auch in Gegenwart von Harnstoff ohne therapeutische Wirkung.

Besprechung.

Wenn wir als erwiesen ansehen, daß die Wirkungsstärke des Strophanthins abhängig ist von der vom Herzmuskel gebundenen absoluten Glykosidmenge, so haben diese Versuche gezeigt, daß der mit Harnstoff vorbehandelte Herzmuskel aus gleicher Konzentration und gleichem Volumen mehr Glykosid zu adsorbieren vermag als das unvorbehandelte Organ. Eine vermehrte Adsorption bei sonst gleichbleibenden Bedingungen ist, wie eingangs gesagt, durch Vergrößerung der zur Adsorption befähigten spezifischen Oberflächen des Herzmuskels zu erklären, die in Gegenwart von Harnstoff dadurch zustande kommt, daß durch Einlagerung von Wasser die Kohäsion der zur Adsorption befähigten aus Kolloiden aufgebauten Zellstrukturen gelockert wird, wodurch deren Oberflächen vergrößert werden. Aus der Tatsache, daß in Gegenwart von Harnstoff 0,5 γ Strophanthin ohne jeden Einfluß auf die Reizbildung im Vorhof, die Überleitung vom Vorhof zur Kammer und die Frequenz der Kammerkontraktionen ist und trotzdem den tonischen Stillstand der Kammer hervorzurufen vermag, geht hervor, daß als Angriffspunkt der Harnstoffwirkung allein die Bausteine der Herzmuskelzelle, im besonderen die Muskeleiweißkörper, deren Quellungszustand, wie in der Einleitung erwähnt wurde, in hohem Maße durch die Gegenwart von Harnstoff beeinflußt wird, in Frage kommen.

Es wurden in dieser Arbeit als Beispiele für die Wirkungsverstärkung des Strophanthins durch Harnstoff Versuche ausgewählt, in denen niedrige Harnstoffkonzentrationen zur Anwendung kamen. Denn in Fällen mittelschwerer und schwerster Niereninsuffizienz lassen sich im Serum, in der Gewebsflüssigkeit und im Gewebe des Urämikers Harnstoffkonzentrationen von 0,05 bis 0,3 % nachweisen. Es ist anzunehmen, daß derart hohe Harnstoffkonzentrationen den physikalisch-chemischen Zustand des Herzmuskelgewebes derart verändern können, daß therapeutisch noch nicht wirksame Strophanthinmengen bereits eine starke therapeutische Wirkung und therapeutische Strophanthindosen bereits toxische Wirkungen hervorzurufen imstande sind.

Zusammenfassung.

Die toxische und therapeutische Wirkung von Strophanthin auf das isolierte Froschherz wird durch Harnstoff verstärkt. Die zur Glykosidadsorption befähigte Oberfläche des Herzmuskels wird durch Harnstoff infolge der durch ihn hervorgerufenen physikalisch-chemischen Zustandsänderungen der Muskeleiweißkörper vergrößert.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Basel.
(Vorsteher: Prof. Dr. Hans Staub.)

Über den Mechanismus der Leukopenie nach intravenöser Glykogenzufuhr*.

VIII. Mitteilung über Blutglykogen**.

Von

Karl Bucher.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 28. Oktober 1938.)

Von Staub, Mezey und Golandas[1] wurde nachgewiesen, daß intravenöse Zufuhr von kolloidalen Kohlehydraten wie Glykogen, Stärke, Gummi arabicum, in wenigen Minuten eine hochgradige Leukopenie im Blut von wenigen Hundert Zellen verursacht. Es verschwanden vorwiegend die Granulocyten aus dem zirkulierenden Blut, so daß bei maximaler Leukopenie ausschließlich Lymphocyten im Blut gefunden wurden; aber auch die Lymphocyten nahmen absolut an Zahl beträchtlich ab.

Das Phänomen wurde von Staub in Parallele gesetzt zu den Leukopenien, wie sie im allergischen Schock[2], bei der Widalschen hämoklastischen Krise[3], nach Reinjektion von Vogelbluterythrocyten an Meerschweinchen und Kaninchen[4] und nach intravenösen Injektionen von Peptonen[5], Bakterienaufschwemmungen und Leukocytenbrei[6] verschiedentlich nachgewiesen wurden. Nach Staub handelt es sich bei allen diesen Fällen um ein Phänomen, das offenbar immer dann auftritt, wenn neue Makromoleküle, Bakterien, blutfremde oder defekte Zellen in das zirkulierende Blut gelangen.

Schilling[4] hatte gefunden, daß nach Reinjektion von Vogelerythrocyten an Kaninchen und Meerschweinchen die Leukopenie deshalb zustande kommt, weil Leukocyten und Vogelerythrocyten in Lungenkapillaren steckenbleiben. Da gleichzeitig auch das Knochenmark an Zellen verarmt, war anzunehmen, daß die Leukopenie auf vermehrten Verbrauch von weißen Blutzellen zur Phagocytose oder fermentativen Tätigkeit zurück-

* Als Dissertation der mediz. Fakultät Basel eingereicht und genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. H. Staub. — ** VII. Mitt. Staub u. Bucher: Klin. Wschr. II, **1938**, S. 1555.

[1] Staub, Mezey u. Golandas: VI. Mitteilung über Blutglykogen. Klin. Wschr. **1938**, II, S. 1501. — [2] Siehe Zusammenfassung von Doerr: Handb. d. norm. und pathol. Physiologie Bd. XIII, S. 650 (1929). — [3] Widal, Abramiu. Jancovesco: Presse méd. **1920**, S. 893. — [4] Oeller: Münch. med. Wschr. **1924**, S. 218; Schilling: Dtsch. med. Wschr. **1925**, S. 516. — [5] Goldscheider u. Jacobi: Z. Klin. Med. **25**, 373 (1894). — [6] Faludi: Fol. haemat. (D.) **59**, 357 (1938).

zuführen sei. Es schien danach wahrscheinlich, daß die phagocytierenden Leukocyten im ersten Kapillargebiet, das sie erreichen, sitzenbleiben und zerfallen.

Die vorliegenden Versuche, über die bereits kurz berichtet wurde[7], wurden durchgeführt, um den Vorgang des Leukocytensturzes nach Glykogen und die Veränderungen im Differentialbild der weißen Blutzellen noch genauer zu analysieren. Vor allem sollte auch festgestellt werden, wohin die Leukocyten während der Leukopenie im zirkulierenden Blut verschwinden. Wir halten diese Versuche mit Glykogenzufuhr als besonders geeignet zur Untersuchung über Leukocytenfunktionen und Leukocytenwanderungen, weil das Glykogen eine körpereigene Substanz ist, auch in großen Mengen injiziert keine schädlichen Nebenwirkungen zeigt und leicht quantitativ verfolgt werden kann.

I. Wiederholung und Erweiterung der Versuche von Staub, Mezey und Golandas.

Methode: Kaninchen erhielten in die Vena auricul. sin. eine körperwarme isotonische Glykogenlösung. Meist wurde Miesmuschelglykogen, für eine bestimmte Fragestellung auch selbst hergestelltes Schweine- oder Kaninchenleberglykogen verwendet. Die injizierte Glykogenmenge ist jeweils in mg pro 100 ccm Blut angegeben, wobei die Blutmenge als ein Dreizehntel des Körpergewichts berechnet wurde. Die Blutentnahmen erfolgten in der Regel aus der rechten Ohrvene.

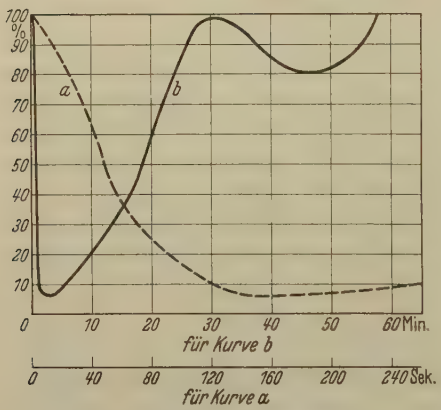


Abb. 1. Verlauf der Leukocytenreaktion. Errechnet aus den Werten von je 12 ausgewählten Versuchen an nüchternen Tieren. Angegeben in Prozenten der Leukocytenzahl des Ausgangswertes = 100 %. Der durchschnittliche absolute Tiefstand betrug 550 Leukocyten pro cmm; der tiefste 200. Die Entnahmen erfolgten: für a nach 30, 60, 90, 120 ... Sek.; für b nach 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60 Min.

In vergleichenden Untersuchungen hat sich vorerst ergeben, daß die Geschwindigkeit der Injektion und die Konzentration der injizierten Glykogenlösung keinerlei Einfluß auf den Kurvenverlauf der Leukocytenreaktion haben. Ob das Tier nüchtern war oder nicht, blieb für den Ablauf der Reaktion ebenfalls bedeutungslos, so daß diese Momente in späteren Versuchen nicht besonders beachtet werden mußten. Die Injektion selbst ist, wie früher schon Staub und Mezey[8] bei der Blutmengenbestimmung nach

[7] Staub u. Bucher: VII. Mitteilung über Blutglykogen. Klin. Wschr. **1938**, II, S. 1555. — [8] Staub u. Mezey: Rev. med. Suisse rom. **1937**, S. 480.

Zufuhr kolloider Kohlehydrate fanden, für das Tier ohne jeden nachteiligen Effekt; die Tiere zeigen weder während noch nach dem Versuch irgendwelche abnormen Erscheinungen und auch keine Spätschädigungen.

Über den Verlauf der Leukocytenreaktion im allgemeinen orientieren die Kurven in Abb. 1. Der Kurventeil bis zu 30 Minuten ist mit auffallender Regelmäßigkeit stets zu finden; dieses typische Kurvenstück unterscheidet sich bei den verschiedenen Tieren nur quantitativ. Der Kurvenabschnitt von 30—60 Minuten dagegen zeigt bei den einzelnen Tieren ein sehr verschiedenes Bild, und dieser Teil in Abb. 1 setzt sich aus individuell recht unterschiedlichen Einzelwerten zusammen.

In einigen Versuchen wurden die Erythrocytenwerte bestimmt, um über die Konzentrationsänderungen des Blutes Aufschluß zu bekommen (Tabelle 1).

Tabelle 1. Konzentrationsänderungen des Blutes.

Protokoll-Nr.:	19	12	3	33	57	
Ausgangswerte.....	5,2	5,1	4,7	4,8	5,0	Millionen Erythrocyten pro cmm
Im Leukocytentiefstand..	4,8	4,8	4,7	4,1	4,6	

Da im Leukocytentiefstand der Erythrocytengehalt meist etwas niedriger ist als vor der Glykogeninjektion, ist wohl eine Blutverdünnung durch die Blutentnahme eingetreten, die aber niemals genügt, um den Leukocytensturz zu erklären.

Bei Bewertung der Versuchsresultate sind folgende Tatsachen zu berücksichtigen:

a) Die peripheren Leukocytenwerte unterliegen bei Kaninchen schon normalerweise großen Schwankungen, die ohne ersichtliche Ursache bis zu 50% innerhalb 30 Minuten betragen können.

b) Mehrmalige Injektionen an demselben Tier rufen oft Veränderungen der Reaktionsbereitschaft hervor, die Verzerrungen der typischen Kurve, oder gar paradoxe Kurve zu erzeugen imstande sind. (Siehe unten: Wiederholte Injektionen.)

c) In den folgenden Versuchen sind die maximalen Leukocytenstürze nicht immer erfaßt, weil nicht so zahlreiche Blutproben wie in den Experimenten zu Abb. 1 entnommen wurden. In Abb. 1 beträgt deshalb der mittlere Tiefstand 6%, in den folgenden Versuchen (Tabelle 2) dagegen nur durchschnittlich 11% des Ausgangswertes.

d) Als charakteristisch positiv wird eine Reaktion bewertet, wenn ein deutlicher Abfall der Leukocyten mit vorwiegendem Verschwinden der myeloischen Formen eintritt.

In Tabelle 2 sind die Änderungen im Differentialbild der Leukocyten in 13 Versuchen angegeben. Es geht daraus hervor, daß der durchschnittliche Gehalt an myeloischen Formen (Pseudo-Eosinophile,

Tabelle 2. Reaktion am Differentialbild der Leukocyten.
Injektionen von 100 mg% Glykogen i. v. Entnahmen: Ausgangswert, 3, 30, 60 Min. nach der Injektion.

Protokoll-Nr.:		21	32	24	24	24	24	31	19	42	43	49	50	11
Vor	L.	6000	12700	3600	7200	8100	5800	6300	9700	8000	10000	5300	9000	11500
	Ps.	64,5	63,0	52,0	18,5	14,5	38,0	31,0	24,5	23,0	60,0	23,0	52,0	52,0
	St.	5,0	1,0	3,0	0,0	6,5	6,5	1,5	6,5	3,0	2,5	1,0	3,0	4,5
	Mo.	3,5	5,0	4,0	6,0	9,0	3,0	8,0	5,0	4,0	6,5	7,0	6,0	10,0
	Eo.	0,0	0,5	1,0	0,5	1,0	1,0	0,5	0,0	1,0	3.0	1,0	2,0	0,5
	Ba.	0,0	2,5	3,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,5	0,0	0,5
	Ly.	26,0	26,5	32,0	70,0	65,0	48,0	56,0	62,5	67,0	25,0	64,5	32,0	31,5
	Pl.	1,0	1,5	4,0	1,0	4,0	3,5	3,0	1,5	1,0	2,0	3,0	5,0	1,0
	My.	0,0	0,0	1,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3 Min.	L.	2800	1500	600	1800	5200	800	1500	3200	2000	700	300	400	1100
	Ps.	3,5	0,0	5,0	0,5	1,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0
	St.	0,0	0,0	1,0	0,0	4,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0
	Mo.	9,0	6,0	3,0	0,0	14,0	2,0	6,0	6,0	2,0	9,0	6,0	5,0	8,0
	Eo.	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0
	Ba.	0,0	1,0	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0
	Ly.	87,5	90,0	81,0	99,5	78,0	96,0	91,0	90,0	97,0	89,0	91,0	87,0	89,0
	Pl.	0,0	3,0	4,0	0,0	3,0	0,0	3,0	2,0	1,0	1,0	1,0	8,0	2,0
	My.	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
30 Min.	L.	5700	9000	4100	8600	7000	5200	9500	7200	6900	7000	7000	8000	7000
	Ps.	53,5	69,0	17,0	15,5	21,5	13,5	31,5	34,5	28,5	59,0	21.5	45,0	48,0
	St.	9,0	5,5	2,5	10,0	4,0	20,0	30,0	3,0	6,5	11,0	8,5	17,0	15,5
	Mo.	2,0	1,0	1,0	1,5	6,0	2,0	2,5	5,5	5.5	5.0	8,0	3,0	6,5
	Eo.	0,5	1,5	1,0	1,5	1,5	1,5	0,5	2,0	0,0	2,0	2,0.	1,5	2,0
	Ba.	0,5	1,5	1,0	0,5	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	1,0	1,0
	Ly.	32,5	20,5	75,5	68,0	64,0	61,0	32,0	54,5	57,5	19.0	56,0	29,0	24,0
	Pl.	0,0	1,0	1,5	2.0	2,5	2,0	1,5	0,5	2,0	3.0	3,0	3,0	3,0
	My.	2,0	0,0	0,5	1,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0.0	1,0	0,5	0,0
60 Min.	L.	13000	9000	6500	7600	5000	5800	5200	7400	7000	12000	11500	5000	24000
	Ps.	78,0	64,0	26,0	36,0	30,0	28,0	45,0	32,0	39,5	67,0	24,0	42,0	56,5
	St.	11,5	10,0	7,0	25,0	10,0	14,0	11,5	6,5	14,0	10,0	15,0	19,0	24,5
	Mo.	0,5	4,5	3,0	0,5	4,0	2,5	4,5	2.5	1,0	4,0	3,5	5,0	1,5
	Eo.	0,0	1,0	1,0	1,0	0,5	0,5	1,5	0,5	1,5	1,5	0,5	1,0	1,0
	Ba.	0,0	0,5	0,5	1,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	1,0	0,0
	Ly.	9.5	17,0	57,0	33,0	55,0	53,5	37,0	56,5	43,5	15,0	55,0	29,5	15,5
	Pl.	0,0	2,5	5,0	1,0	0,5	1,0	0,0	2,0	0,5	1,5	1,5	2,0	0,5
	My.	0,5	0,5	0,5	2,0	0,0	0,5	0,5	0,0	0,0	0,0	0,5	0,5	0,5

Stabkernige, Eosinophile, Basophile, Myelocyten) von 44 % im Ausgangswert auf $2^1/_2$ % im Tiefstand sinkt. Ferner ist ersichtlich, daß im Regenerationsstadium, d. h. 30 und 60 Minuten nach der Glykogeninjektion, wenn die Leukocytenzahl wieder angestiegen ist, regelmäßig eine Linksverschiebung mit Vermehrung der stabkernigen Formen vorhanden ist. In 4 von den 13 Versuchen, die in Tabelle 2 aufgeführt sind, besteht 60 Minuten nach Glykogeneingabe eine Hyperleukocytose. Eine erhebliche Hyperleukocytose kann auch nach mehrmaliger Glykogeninjektion erreicht werden (siehe weiter unten, Abschnitt IV).

II. Die Abhängigkeit der Reaktion von der Quantität der injizierten Glykogenmenge.

Aus den Versuchen in Tabelle 3 ist zu ersehen, daß wohl nicht alle Tiere bereits auf 1 mg% i. v. Glykogen mit dem auffälligen leukopenischen Phänomen reagieren. Bei Zufuhr von 10 mg% haben wir aber keine Versager gesehen, es sei denn bei Tieren, die auch auf höhere Dosen nicht reagierten (etwa 5 % aller von uns untersuchten Kaninchen). Wir können aus diesen Versuchen in Tabelle 3 schließen: Kommt der Abfall überhaupt zustande, dann ist der absolut erreichte Tiefstand mehr oder weniger unabhängig von der applizierten Glykogenmenge. (Aus früheren Versuchen von Staub, Mezey und Golandas konnte eine Proportionalität zwischen applizierter Glykogenmenge und Dauer der Leukopenie angenommen werden. Diese zeitlichen Verhältnisse werden später nochmals genauer untersucht.)

Tabelle 3. Abhängigkeit der Reaktion von der Glykogenmenge.

Gesamtblutmenge als $^1/_{13}$ des Körpergewichtes angenommen. Pro errechnete 100 ccm Blut entsprechende Milligramme Glykogen injiziert. Die Leukocytenwerte sind jeweils nach 3 Min. bestimmt. Die Ausgangswerte sind nicht angeführt.

Protokoll-Nr.	Absolute Tiefstände nach mg Glykogen pro 100 ccm Blut				Prozentuale Tiefstände nach mg Glykogen pro 100 ccm Blut			
	1000	100	10	1 mg	1000	100	10	1 mg
28	5000	5000	5000	5000	50	50	50	70
22	1900	1300	500	1400	8	8	2,5	10
14	1900	2000	1800	7500	9	8	11	93
37	900	400	300	700	11	7	4	9
38	300	200	300	200	1,5	2	2	2,5
53	1400	900	1700	2000	13	13	21	17
54	800	400	400	400	11	5	4	5
28	3500	1300	1000	5900	45	14	9	63
31	2800	950	1000	900	23	8	8	8

III. Wirkung verschiedener Glykogenarten.

Von der Überlegung ausgehend, das Miesmuschelglykogen könnte als „artfremdes“ Glykogen eventuell einen besonderen Effekt auf die Leukocytenreaktion haben, wurde die Wirkung von selbst dargestelltem Ka-

Tabelle 4. Wirkung verschiedener Glykogenarten.
Es wurde der Ausgangswert (vor) und der vermutliche Tiefstand (3 Min.) 3 Min. nach der Injektion ermittelt.

Protokoll-Nr.	mg%	Muschelglykogen		Kaninchenglykogen		Schweineglykogen	
		vor	3 Min.	vor	3 Min.	vor	3 Min.
23	10			9 500	1 900		
	1	8 900	2 600	7 000	5 600	5 100	1 900
24	10						
	1	10 400	2 200	9 900	7 900	5 100	1 300
25	10	6 700	2 000	9 600	2 300		
	1	2 900	1 400	9 000	9 000	4 800	1 900
26	10			7 300	1 100		
	1	5 900	1 200	6 600	5 500		
27	10			3 700	1 800		
	1	8 300	1 300				

ninchen- und Schweineleberglykogen mit derjenigen von Muschelglykogen am selben Tier verglichen. Das Leberglykogen wurde nach der Pflügerschen Methode dargestellt. Aus Tabelle 4 geht hervor, daß zwischen den drei Glykogenarten kein qualitativer, sondern nur ein quantitativer Wirkungsunterschied besteht. Das Kaninchenleberglykogen bewirkt tatsächlich eine etwas geringere Leukopenie als die beiden anderen Sorten.

Dieser quantitative Unterschied ist womöglich auf die verschiedene Größe der Glykogenmakromoleküle zurückzuführen, die ja nach den Untersuchungen von Staudinger und Husemann[9] außerordentlich schwankt und von der Darstellung des Glykogens, d. h. von der mehr oder weniger starken teilweisen Hydrolyse des Makromoleküls und dem Prävalieren einzelner Polymerhomologen, abhängt.

IV. Über die Wirkung wiederholter Injektionen von Glykogen.

Strenge, allgemein gültige Gesetzmäßigkeiten konnten bei mehrmaliger Applikation von Glykogen bis jetzt in unseren Versuchen nicht gefunden werden; wir beschränken uns deshalb auf die Angabe öfterer Befunde:

a) Wurde der Abfall der Leukocyten durch eine Erstinjektion von 10 mg% hervorgerufen, so konnte nach 2 Stunden der Abfall in genau derselben Weise erneut hervorgerufen werden. (Wir haben auf diese Weise in einem Fall innerhalb 14 Stunden siebenmal denselben Leukocytensturz provozieren können.)

b) Nach 1 mg% ist das Leukopeniephänomen meist schon nach 1 Stunde erneut auslösbar.

c) Nach 1000 mg% konnte erst nach mehreren Stunden wieder ein Abfall durch Reinjektion erzielt werden.

d) Durch wiederholte Injektion während des Tiefstandes einen noch tieferen Abfall zu erzeugen, ist uns nie gelungen.

[9] Staudinger u. Husemann: Liebigs Ann. d. Chem. **530**, 1 (1937).

e) Auch mehrmalige Injektionen wechselnder Glykogenmengen zu beliebiger Zeit innerhalb der ersten 30 Minuten nach der Erstinjektion sind ohne Einfluß auf die typische Kurvenform der Erstinjektion.

Als besonders auffallendes Phänomen sei hervorgehoben, daß in einigen Fällen (siehe auch Tabelle 2) eine Hyperleukocytose hervorgerufen werden konnte, die bei wiederholter Injektion von jeweils 1000 mg% Glykogen sukzessive zunahm. Die beiden auffälligsten Befunde dieser Art sind in Abb. 2 dargestellt. Wir ersparen uns die genaue Wiedergabe dieser Versuche, bis Genaueres über ihren Mechanismus auszusagen ist.

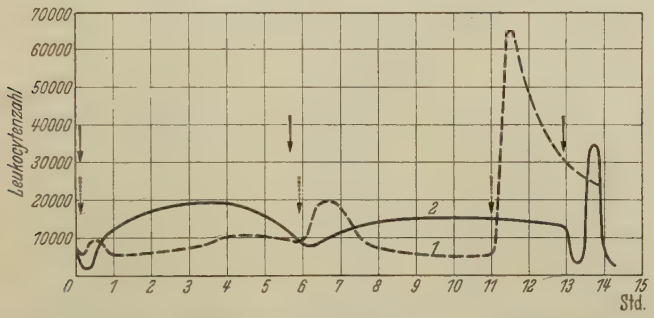


Abb. 2. Hyperleukocytose nach mehrmaliger Glykogeninjektion. Die Pfeile bezeichnen den Zeitpunkt, wo jeweils 1000 mg% Miesmuschel-Glykogen injiziert wurde.

V. Wohin wandern die Leukocyten, die nach Glykogeninjektion aus dem peripheren Blute verschwinden?

a) Versuche an eviscerierten Tieren.

Eine Anzahl Tiere wurden total eviscerierte, d. h. sämtliche Abdominalorgane einschließlich Urogenitalsystem bis auf einen kleinen Leberrest entfernt. Tabelle 5 läßt erkennen, daß bei 6 von 7 operierten Tieren der Leukocytenabfall trotz Evisceration auftritt. Die Leukocyten wandern offenbar nicht in die Abdominalorgane. Auch die typische Verschiebung im Differentialbild der Leukocyten (fast völliges Verschwinden der myeloischen Zellen, fast nur noch Lymphocyten im peripheren Blut) ist am eviscerierten Tier nachweisbar. Die Operation an sich bewirkt zwar schon Leukopenie, Rückgang der myeloischen und Prävalieren der lymphatischen Zellen, aber durch Glykogeninjektion werden diese Veränderungen noch verstärkt (vgl. Tabelle 5).

b) Bedeutung des Hautkapillargebietes für die Glykogen-Leukocytenreaktion.

Methodik. Nach Bestimmung des Ausgangswertes wird durch Metallklemmen das linke Ohr völlig aus dem Kreislauf ausgeschaltet. Darauf werden 10 mg% Glykogen in die Vena auricul. dextr. herzwärts und möglichst proximal injiziert. 3 Minuten später, d. h. im Zeitpunkt, in

Tabelle 5. Versuche an eviscerierten Kaninchen.
Narkose Urethan 10%, 1,0 g/kg subcutan. 100 mg% Miesmuschel-Glykogen i. v. Leukocytenwerte vor und unmittelbar nach Narkose, nach Operation, (Ausgangswert) 3, 30 und 60 Min. nach der Injektion.

Protokoll-Nr.	Vor Narkose	In Narkose	Nach Operation	Injektion	3 Min.	30 Min.	60 Min.
39	9 000	9000	4800	↓	2200		
13	11 500	9500	1800		700	1200	1500
5	3 500	3500	2000		500	4000	9500
2	6 300	7000	2400		2400	6500	9800
3	2 800	2800	1250		900	1000	
47	3 000	2900	3200		1800	2400	4400
46	8 300	8000	2700		900	3500	7000
			Differenziert:				
46	Ps. 57,0	55,0	18,0		0,0	12,0	35,0
	St. 2,5	3,5	2,0		0,0	14,0	21,0
	Mo. 5,0	6,0	8,0		6,0	7,0	6,0
	Eo. 1,0	1,0	1,5		0,0	1,0	1,5
	Ba. 0,0	0,0	0,5		0,0	0,0	0,5
	Ly. 31,0	32,5	66,0		87,0	60,5	32,5
	Pl. 3,5	2,0	4,0		7,0	5,0	3,5
	My. 0,0	0,0	0,0		0,0	0,5	0,0
13	Ps. 36,5	33,5	17,0		6,0	11,5	10,0
	St. 0,0	3,0	2,0		0,0	13,0	15,0
	Mo. 7,0	7,0	2,0		5,0	5,0	4,5
	Eo. 1,0	1,5	0,0		2,0	1,0	1,5
	Ba. 0,0	0,5	0,0		0,0	0,0	0,5
	Ly. 51,5	51,5	76,0		85,0	66,5	65,5
	Pl. 4,0	3,0	3,0		2,0	3,0	3,0
	My. 0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0
3	Ps. 61,5	59,5	0,5		0,0	3,5	
	St. 3,0	4,5	0,0		0,0	4,5	
	Mo. 4,0	4,0	5,0		4,0	3,5	
	Eo. 1,5	1,0	0.0		0,0	0,0	
	Ba. 0,0	0,5	0,0		0,0	0,0	
	Ly. 28,0	27,0	88,0		93,0	83,5	
	Pl. 2,0	3,5	6.5		3,0	4,5	
	My. 0,0	0,0	0,0		0,0	0,5	

welchem maximaler Leukocytentiefstand anzunehmen ist, wird das rechte Ohr peripher von der Injektionsstelle auf gleiche Weise aus der Zirkulation ausgeschaltet. Aus beiden Ohren wird jeweils 30 Minuten nach ihrer zirkulatorischen Ausschaltung Blut zur Leukocytenuntersuchung entnommen. Die Resultate sind in Tabelle 6 aufgeführt.

Das wesentlichste Ergebnis ist, daß im Leukocytentiefstand die weißen Blutkörperchen sich nicht im Hautkapillargebiet befinden, sonst wäre im rechten Ohr, das während des angenommenen Leukocytentiefstandes zirkulatorisch isoliert wurde, nicht auch ein Leukocytensturz nachweisbar. Im primär zirkulatorisch ausgeschalteten linken Ohr sind, offenbar infolge des 30 Minuten langen Absterbevorganges, Leukocyten aus dem Gewebe in die Strombahn eingewandert, so daß die Zahl der Leukocyten, und zwar vorwiegend die myeloischen Formen, im Blute des linken Ohres zunahmen.

Tabelle 6. Versuche über die Bedeutung des Hautkapillargebietes für die Leukocytenreaktion.
(Methodik und Auswertung der Versuche siehe Text.)

Protokoll-Nr.	Linke Ohren, primär ausgeschaltet		Rechte Ohren, im Tiefstand ausgeschaltet	
	vor	30 Min.	vor	30 Min.
27	5 300	7 200	5 300	2100
13	6 300	9 400	6 300	3300
14	6 500	7 400	6 500	1100
15	4 100	5 900	4 100	2000
16	5 700	6 600	5 700	1700
17	11 000	14 000	11 000	3800
	Differentialblutbild:			
27 Ps.	53,0	67,0	53,0	45,5
27 St.	4,0	12,0	4,0	19,0
27 Mo	1,5	1,5	1,5	0,0
27 Eo.	1,5	0,0	1,5	1,0
27 Ba.	0,0	0,0	0,0	0,0
27 Ly.	34,0	15,5	34,0	28,0
27 Pl.	2,0	2,0	2,0	3,5
27 My.	4,0	2,0	4,0	3,0
13 Ps.	39,0	44,5	39,0	37,0
13 St.	1,0	17,0	1,0	13,0
13 Mo.	5,0	2,5	5,0	3,0
13 Eo.	1,0	1,5	1,0	1,0
13 Ba.	1,5	1,0	1,5	0,5
13 Ly.	49,5	31,5	49,5	39,0
13 Pl.	3,0	2,0	3,0	6,0
13 My.	0,0	0,0	0,0	0,5

Diese Befunde am linken Ohr sind Kontrollen, deren Ausfall die Leukopenie im rechten Versuchsohr noch beweiskräftiger macht.

Es bestehen also keine Anhaltspunkte dafür, daß im leukopenischen Stadium die weißen Blutkörperchen im Hautkapillargebiet sich ansammeln. An sich war ein solcher Wirkungsmechanismus auch gar nicht wahrscheinlich, weil ja das hier beschriebene Grundphänomen zum Teil auch an Hautkapillarblut entdeckt und verfolgt worden ist.

c) Ist die Muskulatur der Stapelungsort für die Leukocyten während der Glykogen-Leukopenie?

Diese Frage kann verneint werden, denn histologische Untersuchungen am Musc. rect. fem. und Musc. psoas ergaben, daß vor und während des peripheren Leukocytentiefstandes sowohl Leukocytenzahl wie Differentialbild der weißen Blutkörperchen in diesen Muskelgebieten praktisch unverändert waren.

d) Versuche am Starlingschen Herz-Lungen-Präparat.

Das Herz-Lungen-Präparat wurde in üblicher Weise am mit Pernocton (0,04 g/kg i. v.) narkotisierten Kaninchen dargestellt. Das notwendige Systemblut wurde einem zweiten, mit Heparin vorbehandelten Kaninchen

entnommen. Glykogen wurde bis zur Konzentration von 100 mg% zugefügt. Das Glykogen wurde erst zugegeben, nachdem eine annähernde Konstanz des Leukocytengehaltes im Systemblut durch mehrmalige Bestimmung nachgewiesen war.

Resultate: Durch Glykogenzufuhr werden Druckverhältnisse und Zeitvolumen des Herzens in der Starlingschen Präparation nicht verändert. Da das Heparin selbst in Mengen von 1 mg auf 4 ccm errechneten Blutes eine periphere Leukopenie macht, stellen sich die Leukocytenausgangswerte für das Herz-Lungen-Präparat sehr niedrig. Die Unterschiede vor und nach Glykogenzugabe sind deshalb gering und in zwei der in Tabelle 7 aufgeführten Versuche nicht sicher nachweisbar (Prot. Nr. 73 und 74).

Tabelle 7. Versuche am Starlingschen Herz-Lungen-Präparat. (Leukocyten im Systemblut vor und nach Glykogenzugabe von 100 mg%.)

Protokoll-Nr.	Vor Glykogenzugabe			1	2	3	6	10	20
				Min. nach Glykogenzugabe					
44		1500	1500	1200	1200	900	1200	1300	
23	1500	1700	1600	1400	1400	800	1200	1500	1700
27	800	750	800	800	300	400	900	1100	
73	900	900	950	750	400	400	350	400	600
77	1400	1400	1400	1000	800	300	300	1000	1500
74	350	500	600	550	500	400	200	1100	1100

Aus den Zahlen in Tabelle 7 ist immerhin in 4 Versuchen eine eindeutige Leukocytenabnahme im Systemblut zu ersehen, die nur wenige Minuten andauert. Da der typische Leukocytensturz auch am Herz-Lungen-Präparat nachweisbar ist, muß sehr wahrscheinlich die Lunge dasjenige Organ sein, in welches sich die Leukocyten während der peripheren Leukopenie vorübergehend zurückziehen.

e) Versuche an isoliert durchströmter Lunge.

Die Kaninchenlunge wurde nach der Methode von Feldberg und Kellaway[10] durchströmt. Die Kaninchen wurden mit Pernocton narkotisiert und zur Durchströmung das Blut des gleichen Tieres mit Heparinzusatz verwendet.

Aus den in Tabelle 8 angeführten drei Versuchen ließ sich in zwei (17 und 80) eine sichere, wenige Minuten dauernde Leukopenie erfassen, so daß mit Sicherheit die Lunge als ein Organ der vorübergehenden Leukocytenretention erkannt ist.

[10] Feldberg u. Kellaway: J. Physiol. (Brit.) **90**, 257 (1937).

Tabelle 8. Durchströmung isolierter Kaninchenlungen.

Protokoll-Nr.	Vor Glykogenzugabe			1	3	5	8	10	20	30
				Min. nach Glykogenzugabe						
17	1900	1900	1900	2000	1500	900	800	1000	1500	1500
19	2800	3000	3100		3500	3000		2500	2000	2000
80	3000	2800	3000	3000	3000	1200		800	2200	2400

Tabelle 9. Vergleich von Leukocytenwerten im Kapillargebiet der Haut und der Leber vor und nach Injektion von Glykogen in Ohrvene oder Pfortaderast.

Protokoll-Nr.		Vor Glykogen		Nach Glykogen.					
		vor		3 Min.		10 Min.		30 Min.	
		Peripherie	Leber	Peripherie	Leber	Peripherie	Leber	Peripherie	Leber
		I. Injektion in die Vena auric.							
28	L.	12 700	26 000	1500	7500	1700	11 000	9000	25 000
	Ps.	63,0	45,0	0,0	3,0	3,0	7,0	69,5	52,0
	St.	1,0	1,5	0,0	4,0	5,0	1,0	5,0	8,0
	Mo.	5,0	2,5	6,0	6,0	1,0	0,0	1,0	1,0
	Eo.	0,5	0,5	0,0	0,0	0,0	1,0	1,5	1,0
	Ba.	2,5	3,0	1,0	2,0	2,0	1,0	1,5	1,5
	Ly.	26,5	46,5	90,0	81,0	87,0	89,0	20,5	35,5
	Pl.	1,5	1,0	3,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,5
	My.	0,0	0.0	0,0	3,0	1,0	0,0	0,0	0,5
53	L.	8500	7800	600	500	1900	2000	10 000	9000
	Ps.	42,0	39,0	0,0	0,0	1,5	2,0	39,5	41,0
	St.	3,0	4.0	0,0	1,0	0,5	1,0	16,0	13,0
	Mo.	5,0	6,5	7,0	4,0	6,0	3,0	5,0	2,0
	Eo.	0,5	1,0	0,0	0,0	0,5	0,0	1,0	0,5
	Ba.	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	1,0
	Ly.	46,5	45,5	84,0	89,0	84,0	91,0	33,5	38,5
	Pl.	2,0	4,0	9,0	6,0	7,0	3,0	4,0	3,5
	My.	0,5	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0.5	0,5
		II. Injektion in die Vena lienalis.							
44	L.	3600	8600	600	1700	2000	700	4100	4500
	Ps.	52,0	43,0	5,0	5,0	2,0	4,0	17,0	6,0
	St.	3,0	3,5	1,0	2,0	0,0	0,0	2,5	1,0
	Mo.	4,0	1,0	3,0	4,0	6,0	8,0	1,0	4,0
	Eo.	1,0	0,5	1,0	1,0	0,0	1,0	1,0	0,5
	Ba.	3,0	3,0	3,0	0,0	2,0	0,0	1,0	2,0
	Ly.	32,0	46,0	81,0	86,0	86,0	82,0	75,5	85,0
	Pl.	4,0	2,5	4,0	0,0	3,0	1,0	1,5	1,0
	My.	1,0	0,5	2,0	2,0	1,0	4,0	0,5	0,5
57	L.	9000	8200	1000	1100	1400	1400	7500	7100
	Ps.	63,0	58,0	0,0	1,0	2,0	1,5	48,0	51,0
	St.	1,5	2,5	0,0	0,0	1,0	2,5	9,5	13,0
	Mo.	5,0	4,5	6,0	4,0	7,0	3,5	6,5	7,0
	Eo.	1,5	1,0	0,0	0,5	0,5	1,0	1,5	1,0
	Ba.	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,5	0,5	0,5
	Ly.	27,0	30,5	90,0	91,0	85,5	87,0	31,5	24,0
	Pl.	2,0	3,0	4,0	3,5	4,0	3,5	2,5	3,5
	My.	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0

f) Spielt die Leber am Zustandekommen der peripheren Glykogen-Leukopenie eine Rolle?

Zur Lösung dieser Frage (Tabelle 9) wurden Kapillarblut der Peripherie und Kapillarblut der Leber verglichen, und zwar einmal nach Injektion des Glykogens in die Ohrvene, das andere Mal in die Vena Portae von der Vena lienalis aus. Die in Tabelle 9 ausführlich wiedergegebenen Versuche lassen eindeutig erkennen, daß auch das Kapillargebiet der Leber die typische Leukopenie mit annähernd völligem Verschwinden der myeloischen Zellen und maximalem Tiefstand der Leukocytenzahl etwa 3 Minuten nach Glykogenzufuhr mitmacht. Ob die Leber primär durchströmtes Kapillargebiet ist oder nicht, sie ist auf jeden Fall nicht der Ort, wo die im zirkulierenden Blut verschwindenden Leukocyten sich aufhalten.

g) Versuche mit intraarterieller Glykogeninjektion in Art. fem. Ausschalten und Wiedereinschalten der hinteren Extremität in die Zirkulation.

Die hintere Extremität wird in Urethannarkose möglichst hoch total umschnürt, mit Ausnahme von Art. und Vena fem. und dem Nervus femoralis. Durch einen Seitenast der Art. fem. wird mittels einer eingebundenen feinen Kanüle 100 mg% Glykogen, bezogen auf errechnetes Blutquantum des Gesamttieres, langsam peripherwärts injiziert. 6 Minuten nach Glykogeninjektion, d. h. im Stadium der Leukopenie, wird das Bein durch Anlegen von Klemmen an Art. und Vena fem. aus dem Kreislauf ausgeschaltet und 30 Minuten später durch Abnehmen der Klemmen wieder an den allgemeinen Kreislauf angeschlossen. Das Verhalten der Leukocyten wird am Ohrvenenblut verfolgt (Tabelle 10).

Tabelle 10. Einfluß von Aus- und Einschalten einer Extremität in die Zirkulation. Wirkung intraarterieller Glykogeninjektion.

Protokoll-Nr.:	38	39	40
Vor	1800	3500	2700
Injektion			
6 Minuten	850	1000	900
Ausschalten			
30 Minuten	1700	2800	2600
Einschalten			
32 Minuten	1700	2700	2700
50 Minuten	3000	4000	3300

Aus der Tabelle 10 geht hervor, daß auch dann, wenn die Muskulatur einer Extremität erstes zu passierendes Kapillargebiet ist, Glykogeninjektion zu Leukopenie führt. Offenbar sind die aus dem zirkulierenden Blute verschwundenen Leukocyten nicht im erstdurchströmten Kapillargebiet, der Muskulatur, länger geblieben; denn trotz Ausschalten erfolgt Wiederanstieg der Leukocytenwerte.

Bei Wiedereinschalten erfolgt kein weiterer, plötzlicher Anstieg.

Besprechung der Ergebnisse.

Eine nicht toxische, körpereigene Substanz, das Glykogen, löst bei intravenöser Applikation am Kaninchen eine kurzdauernde, reversible Leukopenie des peripheren Blutes aus, die nach Ablauf einer gewissen Latenzzeit beliebig oft und in demselben Maße erneut zu erhalten ist. Der Effekt ist erheblich: Ein tiefer Leukocytensturz (6—10 % des Leukocytenausgangswertes) mit vorwiegendem Verschwinden der myeloischen Zellformen. Nach 30 Minuten ist die Ausgangsleukocytenzahl wieder erreicht. Für die Regeneration der normalen Leukocytenzahl sind verantwortlich:

a) Die gleichen Leukocyten, welche nach vorübergehender Retention in den Lungenkapillaren wieder in das zirkulierende Blut zurückkehren. (Versuche am Starlingschen Herz-Lungen-Präparat ergeben qualitativ denselben Kurvenverlauf.)

b) Die aus den Blutbildungsstätten als Reaktion auf die periphere Leukopenie neu in die Strombahn ausgeworfenen Leukocyten. (Linksverschiebung nach 30 Minuten.)

Im Anschluß an die Leukopenie nach einer einzigen Injektion tritt öfters eine Leukocytose auf. Diese ist möglicherweise ein Additionseffekt der aus der Lunge zurückgekehrten und der vom Knochenmark reaktiv ausgeworfenen Leukocyten. Diese Leukocytosereaktion ist individuell verschieden.

Wenn die leukopenische Reaktion durch mehrmalige Glykogeninjektionen in geeigneten Abständen wiederholt wird, so ist öfters im Anschluß an die einzelnen Hypoleukocytosen eine immer stärker werdende Leukocytose zu beobachten (bis 65000).

Die hier beschriebene leukopenische Reaktion ist auslösbar durch Injektion arteigenen — oder artfremden — Glykogens in Mengen von 1 mg bis zu 1000 mg pro 100 ccm Kaninchenblut (Gesamtblutmenge als ein Dreizehntel des Körpergewichtes angenommen). Regelmäßig tritt sie in Erscheinung nach 10 mg%. Nach größeren Glykogenmengen besteht scheinbar eine größere Latenz gegen erneutes Auslösen des Effektes.

Da es sich um einen reversiblen Vorgang handelt, scheint ihm eine physiologische Bedeutung zuzukommen. Wir vermuten, daß die kolloiden Kohlehydrate von den myeloischen Formen, vorwiegend den granulierten Leukocyten, adsorbiert oder phagocytiert und transportiert werden. Auf diese Transportfunktion der Leukocyten wurde schon früher von Staub und Golandas[11] in einem anderen Zusammenhang hingewiesen.

Das Ziel dieses Transportes ist nach den vorliegenden Untersuchungen spezifisch die Lunge, in welcher die Leukocyten vorübergehend retiniert werden. (Versuche an isoliert durchströmter Lunge.) Für die Spezifität spricht, daß die Leukocytenretention auch in der Lunge stattfindet, wenn

[11] Staub u. Golandas: Pflügers Arch. **236**, 3 (1935).

sie nicht erstdurchströmtes Kapillargebiet des glykogenangereicherten Blutes ist. Daß in der Lunge retinierte Leukocyten tatsächlich wieder intakt in die Strombahn zurückkehren und nicht in der Lunge zerfallen, läßt sich aus dem Kurvenverlauf der Leukocyten im Durchströmungsblut des Starlingschen Herz-Lungen-Präparates und an isoliert durchströmter Lunge folgern.

Ob dieses Verweilen der Leukocyten in der Lunge mit irgendeinem Stoffwechselprozeß am transportierten Material etwas zu tun hat, ob z. B. in der Lunge besonders günstige Oxydationsbedingungen oder für Fermentreaktionen optimale Verhältnisse herrschen, bleibt zu untersuchen.

Über den Mechanismus der Retention der Leukocyten hat Staub eine sehr plausible Erklärung entwickelt. Er setzt die Leukopenien nach Zufuhr kolloider Kohlehydrate in Parallele zu den Leukopenien, wie sie im Verlauf von Allergien verschiedenster Art, z. B. in der hämoklastischen Krise (Widal[3]), nach Reinjektion an mit Vogelerythrocyten sensibilisierten Meerschweinchen und Kaninchen (Oeller, Schilling[4]) oder nach intravenösen Injektionen von Peptonen, Milzextrakten, Bakterienaufschwemmungen (Goldscheider und Jacobi[5], Faludi[6]) auftreten. In allen diesen Fällen handelt es sich um ein Auftreten fremder Eiweißkörper oder größerer korpuskulärer Elemente im zirkulierenden Blut.

Staub nimmt an, daß die Leukocyten — und zwar in erster Linie die ohnehin größeren myeloischen Formen — nach Phagocytose oder Adsorption größerer blutfremder Zellen oder Makromoleküle von Eiweiß- oder Kohlehydraten, zu voluminösen Aggregaten werden und infolgedessen in den engen Lungenkapillaren steckenbleiben. Ferner wird von Staub auch als möglicher Mechanismus diskutiert, daß die Leukocyten durch die phagocytierten Makromoleküle in ihrer Plasmastruktur versteift würden und sich dann weniger gut dem Kapillarlumen anpassen und durch die Haargefäße hindurchschlängeln könnten. Die Annahme ist gestützt durch den histologischen Befund des Steckenbleibens von Leukocyten mit phagocytierten roten Blutkörperchen (Schilling[4]).

Auf der Basis der hier vorliegenden Versuchsergebnisse haben sich für uns weitere Fragestellungen in physiologischer, pathologisch-physiologischer und therapeutischer Hinsicht ergeben.

Zusammenfassung.

Es wird das Verhalten der Leukocyten bei Kaninchen nach intravenöser Glykogenzufuhr beobachtet:

1. Intravenöse Zufuhr von Glykogen bewirkt an Kaninchen intensiven, kurzdauernden, reversiblen Leukocytensturz mit typischem Differentialbild. Nach den Erythrocytenwerten tritt keine wesentliche Konzentrationsänderung des Blutes auf.

2. Die leukopenische Reaktion ist durch Injektion von 1—1000 mg% Glykogen erzielt worden (mg% injizierter Glykogenmenge berechnet auf eine Gesamtblutmenge von ein Dreizehntel des Körpergewichtes). Mit 1 mg% und mit 1000 mg% wird qualitativ und quantitativ annähernd gleiche leukopenische Reaktion erreicht. Nach größeren Mengen injizierten Glykogens besteht eine längere refraktäre Phase.

3. Verschiedene Glykogenarten (Muschel-, Kaninchenleber-, Schweineleber-Glykogen) zeigen nur quantitative Unterschiede im leukopenischen Effekt.

4. Durch wiederholte Injektionen können oft starke, reaktive Leukocytosen hervorgerufen werden.

5. Auch an eviscerierten Tieren kommt der gleiche Effekt zustande.

6. Weder im Hautkapillargebiet, noch im Kapillargebiet der Skeletmuskeln, noch im Leberkapillarblut ist im Leukocytentiefstand eine Anreicherung der weißen Blutkörperchen nachweisbar.

7. Am Starlingschen Herz-Lungen-Präparat tritt nach Glykogenzugabe zur Durchströmungsflüssigkeit der Leukocytensturz ebenfalls ein.

8. An isoliert durchströmter Kaninchenlunge ist der leukopenische Effekt nach Glykogenzusatz zur Perfusionsflüssigkeit ebenfalls nachweisbar.

9. Die Lunge ist demnach der Ort, wo die Leukocyten sich vorübergehend aufhalten.

Die Arbeit ist auf Anregung und unter Leitung von Prof. Staub ausgeführt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Die antidotarische Behandlung der akuten Bariumvergiftung.

Von

Antonio Risi, Neapel.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Oktober 1938.)

Die akute Bariumvergiftung am Menschen äußert sich im wesentlichen an den glattmuskeligen Organen des Darms und der Blutgefäße und dem diesen verwandten Herzmuskel, alle diese Organe geraten in einen langdauernden tonischen Kontraktionszustand. Der Tod ist ein Herztod. Als tödliche Dosis für den Menschen nimmt man bei innerlicher Gabe 3,0 g an. Im Verlaufe der Vergiftung tritt Pulsverlangsamung und Blutdrucksteigerung ein. Deshalb hat man sogar versucht, das Barium als Ersatz von Digitalis zu verwenden, das ja am kranken Menschen die gleichen Erscheinungen zeigt (Schedel[1]). Der Angriff am Herzen ist der Herzmuskel selbst und zwar dessen Membran, die wie durch andere herzaktive Kationen (Kalium, Calcium) bei lokaler Behandlung mit Bariumion den chemischen Alterationsstrom gibt (Hermanns[2]). Die Wirkungsart am Darm und den Gefäßen wird wohl die gleiche sein. Wie alle Membranwirkungen ist auch die Bariumwirkung glatt reversibel und durch Auswaschen restlos zu beheben, nur haftet das Barium fester und ist langsamer auszuwaschen wie Calcium oder Kalium.

Die antidotarische Behandlung kann entweder eine Entfernung der Ursache oder eine Behandlung der Symptome der Vergiftung anstreben. Die ursächliche Behandlung entfernt das tödliche Bariumion durch Fällung mit einem Sulfat als unlösliches Bariumsulfat. In allen Lehrbüchern der Toxikologie ist denn auch die Behandlung der Bariumvergiftung mit Glaubersalz innerlich empfohlen. Es sind tatsächlich eindeutige Fälle von Bariumvergiftung beschrieben, in denen das Glaubersalz den Tod verhinderte, obwohl schon Bariumsymptome aufgetreten waren [Sammlung von Vergiftungsfällen 5 (1934)]. Aber alle Fälle sind dadurch unklar, daß nicht ausgeschlossen werden kann, daß lediglich noch nicht resorbiertes Barium im Darmkanal an der Resorption verhindert worden ist.

Um zu sehen, ob die antidotarische Behandlung mit Glaubersalz am lebenden Organ tatsächlich nach stöchiometrischen Bedingungen statt-

[1] Schedel, H.: Beiträge zur Kenntnis der Wirkung des Chlorbariums. Monographie . Stuttgart, F. Enke, 1903. (Unter Kobert) dort auch ältere Literatur. — [2] Hermanns, L.: Z. Biol. **58**, 261 (1912).

findet, wurden Versuche am ausgeschnittenen Froschherzen in Anordnung nach Straub angestellt. Das Herz wurde mit einer bekannten etwas über der Grenzdosis liegenden Menge von Bariumchlorid zum systolischen Stillstand gebracht und dann, ohne den Inhalt der Kanüle zu wechseln, die äquivalente Menge Natriumsulfat zugegeben. Es trat völlige Erholung auf. Wurde jedoch nur $^1/_2$ Äquivalent Glaubersalz zugefügt, so blieb die Bariumwirkung bestehen (konnte aber natürlich durch Waschen total behoben werden) (Abb. 1).

Am isolierten Organ ist also die antidotarische Behandlung mit Sulfat grundsätzlich wirksam. Eine andere Frage ist es, ob diese Fällungsreaktion

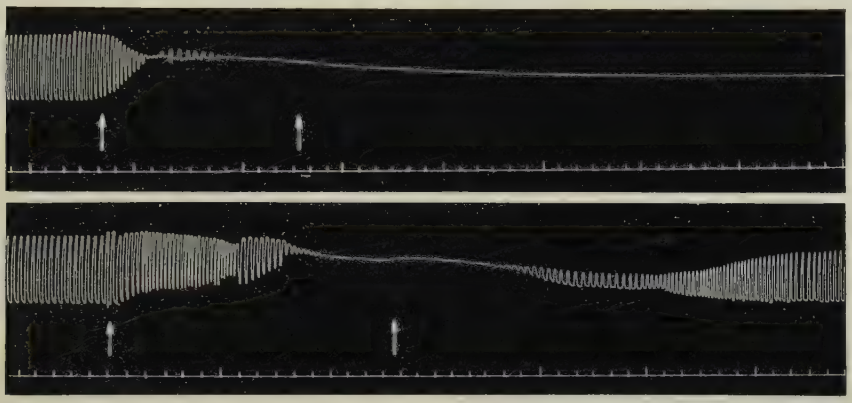


Abb. 1. Obere Kurve 0,002 g Bariumchlorid, dann $^1/_2$ Äquivalent Sulfat. Untere Kurve (dasselbe Herz) Bariumchlorid wie oben, dann 1 Äquivalent Sulfat.

auch am Herzen in situ besteht. Um dies zu prüfen, wurden Versuche am Meerschweinchen mit Registrierung des Blutdrucks angestellt (Abb. 2)*. Injiziert man dem Tier die etwas übertödliche Dosis von 0,036 g/kg intravenös, so tritt die bekannte enorme Blutdrucksteigerung ein und nach wenigen Minuten der Tod durch Herzstillstand. Dieser Effekt läßt sich aber abfangen, wenn man nach der Bariuminjektion das doppelte Äquivalent Natriumsulfat intravenös injiziert (Abb. 2b). Das Tier bleibt in einer 24stündigen Weiterbeobachtung am Leben. Bemerkenswerte Einzelheiten sind folgende: Das Gegengift wirkt noch 8 Minuten nach der Einverleibung des Giftes, dieses wird also ziemlich langsam an der Oberfläche der Herzmuskelzellen wirksam; nicht verwunderlich, weil ja für Barium keine spezifische Affinität etwa im Sinne einer Bindung wie von Digitalisglykosiden besteht, es wirkt vermöge seiner Konzentration im strömenden Blut, die nach der Injektion erst ausgeglichen werden muß. Ferner ist die erste Injektion von Sulfat noch nicht voll wirksam, es treten jene gewaltigen Stürme im Gefäßsystem auf, die zu den großen Remissionen

* Herrn Prof. Zengo Kanda (Nagoya) hatte die Freundlichkeit, die Blutdruckversuche anzustellen.

führen, wie sie schon von R. Boehm[3] beschrieben worden sind, aber auch diese Zustände können durch eine weitere Sulfatinjektion beseitigt werden. Weiter ist es sehr bemerkenswert, daß der Blutdruck nunmehr dauernd auf einer abnorm hohen Stufe bleibt, mit großen Amplituden der einzelnen Pulse. Das heißt, daß die Gefäßwirkung des Bariums viel seßhafter ist als die Herzwirkung. Bariumvergiftung am Herzen des Warmblüters ist demnach durch Sulfat zu heilen, wenn man dieses intravenös gibt.

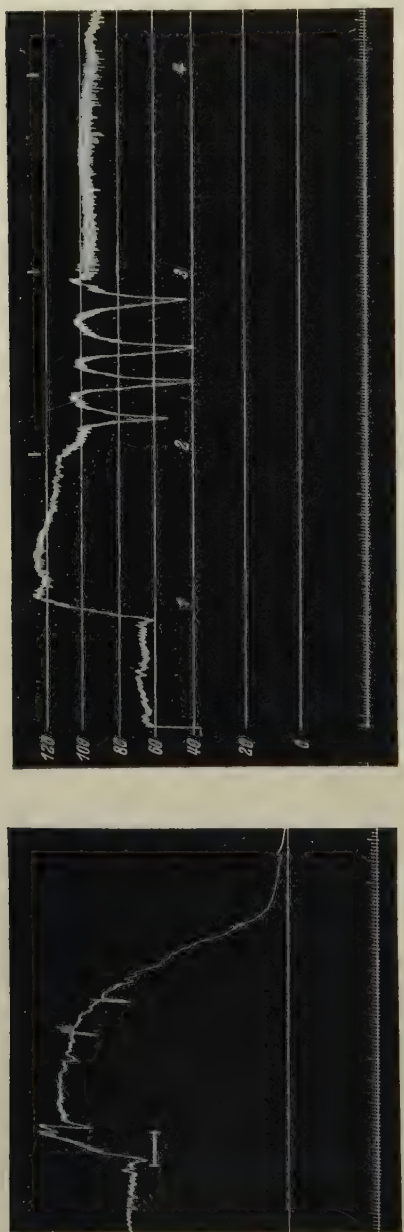


Abb. 2a. Meerschweinchen. Blutdruckmessung bei 1. 0,036 g Bariumchlorid/kg intravenös starke Blutdrucksteigerung, dann Senkung und Tod. 2b: bei 1 0,036 g/kg $BaCl_2$, bei 2, 3, 4 jeweils ein Äquivalent Natriumsulfat.

Die antidotarische Behandlung der Darmwirkung des Bariums wurde am Darm des Meerschweinchens in situ nach der Methode von Straub untersucht. Injiziert man dem Tier 0,018 g/kg Bariumchlorid intravenös, stirbt es nicht den Herztod, dagegen ist die Wirkung am Darm, und zwar Dünndarm wie Dickdarm, schon maximal und besteht in einer fast momentan eintretenden Beschleunigung der Peristaltik und fortschreitenden Erhöhung des Tonus (Abb. 3). Die Injektion vom mehrfachen Äquivalent von Natriumsulfat ändert gar nichts an dieser Wirkung, auch wenn diese Sulfatgaben mehrfach wiederholt werden (Abb. 3b).

Die Darmwirkung des Bariums ist also viel intensiver als die Herzwirkung und durch Sulfat nicht zu beseitigen. Eine symptomatische

[3] R. Boehm: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **3**, 216 (1875).

antidotarische Behandlung der Bariumwirkung am Darm müßte mit einer tonuslähmenden Substanz versucht werden, die mittelbar die Peristaltik hindert. Morphin oder Atropin versucht man in der Praxis, Morphin wurde experimentell geprüft.

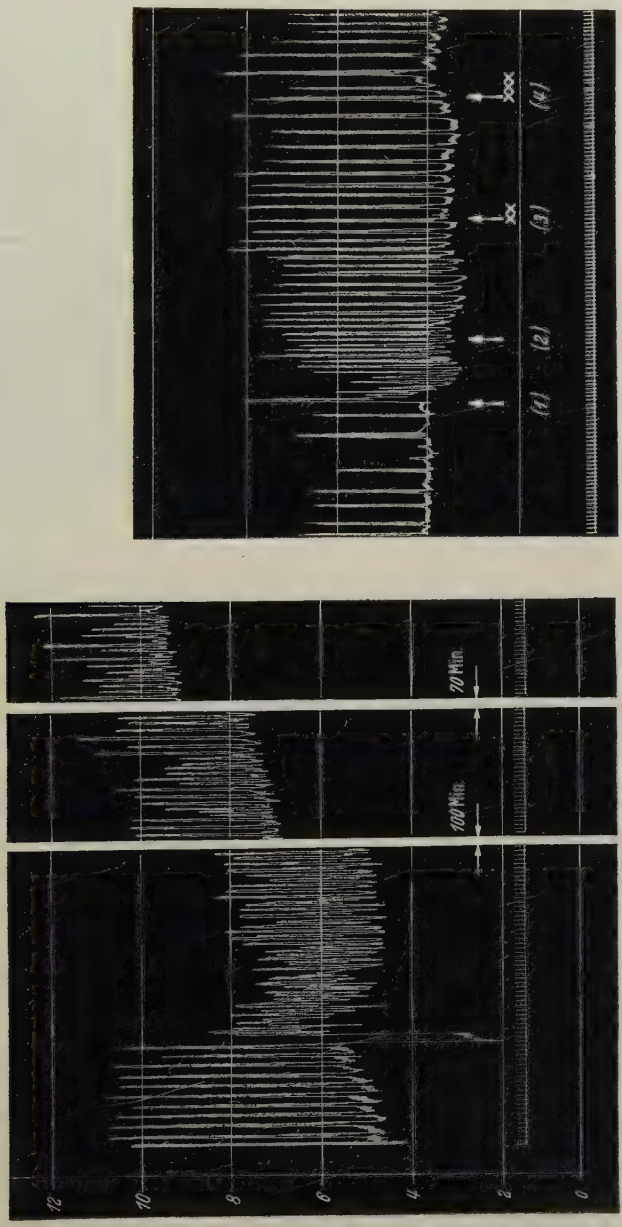


Abb. 3a: Meerschweinchendünndarm nach Straub. 1. Normale Peristaltik, 2. durch Verminderung der Füllung Peristaltik still gestellt, dann Barium intravenös 0,01 g/kg. Anhaltende Tonussteigerung und Frequenzvermehrung. 3b: bei 1 0,01 g Barium, bei 2, 3 doppeltes Äquivalent Sulfat, bei 4 vierfaches.

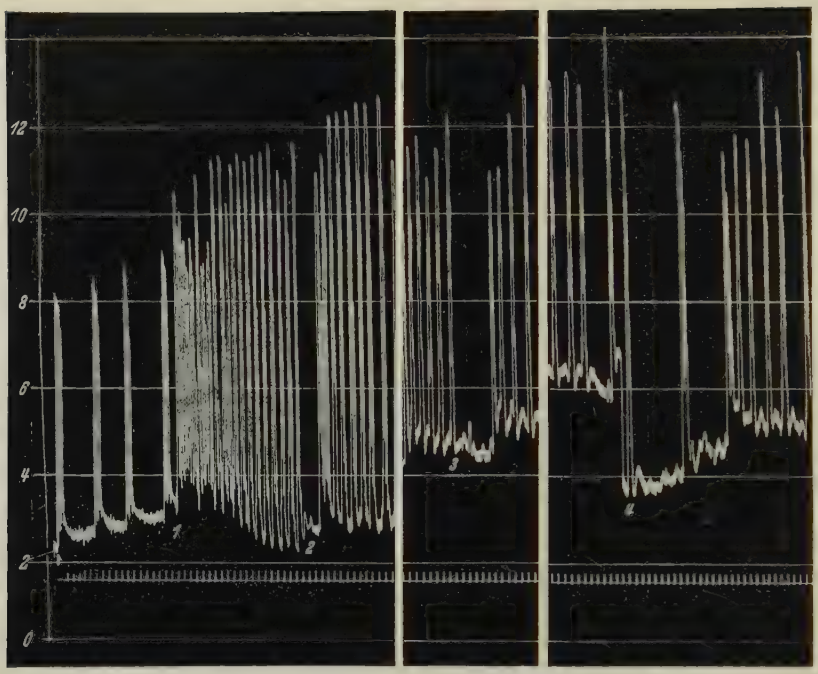


Abb. 4. 1. Barium am Dünndarm 0,01 g/kg. 2. 0,01 g/k Morphin. 3. 4. desgleichen.

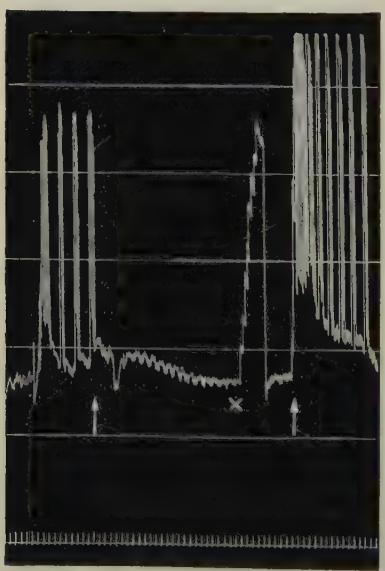


Abb. 5. 1 Morphinwirkung am Dünndarm durch 0,02 g/kg Morphin, dann 0,005 g/kg Bariumchlorid.

Nach Straub und Ozaki[4] liegt die untere Grenze der Tonus- und Peristaltiklähmung durch Morphin bei 0,01 mg/kg, sie wirkt für etwa 20 Minuten Dauer. Es wurde, um sichere, maximale Morphinwirkung zu erreichen, aber die 10fache Dosis von 0,1 mg/kg gewählt. Von dieser Dosis wird der Bariumzustand nach 0,1 mg/kg nur für einige Minuten durchbrochen, dann bricht sofort wieder der alte Bariumzustand durch (Abb. 4a). In dem Maße als die Bariumwirkung

* Nach Literaturangaben soll Thiosulfat vermöge seines überschüssigen Schwefels von besonderem therapeutischem Wert sein, das konnte nicht bestätigt werden, Thiosulfat ist so wirkungslos wie Sulfat. Ebensowenig wirken andere überschwefelte organische Stoffe wie Cystin und Cystein.

[4] Straub u. Ozaki: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **173**, 374 (1933).

allmählich verschwindet wird der Effekt der jeweiligen Morphindosis längerdauernd (Abb. 4c).

Es besteht also ein sehr geringer Antagonismus Morphin-Barium, von dem therapeutisch nicht viel zu erwarten sein wird.

Der Antagonismus ist reziprok. Im Versuch der Abb. 5 wurde eine starke Peristaltiklähmung durch 0,01 g/kg Morphin gemacht, die Lähmung war so stark, daß auch eine starke Erhöhung des Füllungsdruckes (*b*) unwirksam ist. Diesen Lähmungszustand durchbricht nun schon die geringe Dosis von 0,005 g/kg.

Folgerungen für die Praxis.

Die an sich tödliche Bariumwirkung am Herzen ist durch das chemische Antidot Sulfat heilbar. Da die üblichen Sulfate wie Glaubersalz vom Darm aus nicht resorbierbar sind, ist von der innerlichen Einverleibung von Sulfat keine Heilwirkung am Herzen zu erwarten. Dagegen ist die Entgiftung des Bariums im Herzen sicher durch eine intravenöse Einverleibung des Sulfats gewährleistet. Bei Bariumvergiftung mit löslichen Bariumsalzen wie Nitrat oder Chlorid wird demnach die intravenöse Einspritzung von Glaubersalz in isotonischer Lösung, die an sich ganz ungefährlich ist, das vordringlichste sein, man wird aber daneben auch die innerliche Gabe des Sulfats nicht versäumen, um damit noch nicht resorbiertes Barium im Darmkanal zu immobilisieren. Sie wird um so mehr angezeigt sein, weil die Vergiftung am Herzen nach löslichem Bariumsalz recht schnell vor sich geht, so daß mit der Anwesenheit von nicht resorbiertem Bariumsalz im Darm immer zu rechnen ist. Bei der Vergiftung mit unlöslichem Bariumsalz wie Carbonat ist die innerliche Behandlung mit Sulfat besonders angezeigt. Hier verläuft die Resorption sehr langsam, weil das unlösliche Carbonat langsam im Darm über das Bicarbonat erst in Lösung und Resorption gelangt, hier sind denn auch die Darmerscheinungen die ersten, daneben ist aber auch die intravenöse Injektion von Sulfat nicht zu unterlassen, nur eben nicht vordringlich.

Das Barium im Herzen ist leichter als Bariumsulfat zu immobilisieren als das Barium des Darms. Da die Bariumwirkung am Darm nicht lebensbedrohend ist, liegt also die antidotarische Behandlung der Bariumvergiftung mit Sulfat quoad vitam günstig, aber wohlgemerkt nur, wenn Sulfat auch intravenös gegeben wird.

Die symptomatische Therapie der Bariumvergiftung wird sich nur auf die Darmwirkung beschränken müssen. Man wird durch Morphin oder Atropin eine vorübergehende Milderung der Spasmen und der Schmerzen erreichen, aber nur für kurze Zeit und mit großen Einzeldosen. Es besteht hier die Gefahr, daß das Morphin seine Atemzentrumwirkung äußern kann

und die Atmung eher lähmt als den Darm. So ist als symptomatisches Antidot das Atropin vorzuziehen.

Zusammenfassung.

1. Die antidotarische Behandlung der akuten Bariumvergiftung mit Sulfat ist aussichtsreich und lebensrettend, wenn Natriumsulfat in isotonischer Lösung intravenös gegeben wird.

2. Die innerliche Darreichung von Sulfat trifft nur noch nicht resorbiertes Barium, muß aber neben der intravenösen Einverleibung auch erfolgen.

3. Die symptomatische Behandlung mit Morphin oder Atropin ist wenig wirksam und trifft nur die Darmwirkung.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Studien über Methämoglobinbildung.

XII. Mitteilung: Harn.

Von

Herbert Riedel.

(Eingegangen am 2. Dezember 1938.)

W. Preyer[1] stellte 1868 bei der spektroskopischen Untersuchung eines Oxyhämoglobin-Harngemisches nach mehrstündigem Stehen das Auftreten des Methämoglobinabsorptionsstreifens im Roten fest. Den gleichen Befund konnte H. Oettel[2] im Verlauf seiner Untersuchungen über die pharmakologischen Wirkungen des Hydrochinons in einem Gemisch aus normalem Katzenharn und Katzenblut erheben. Weiterhin wurde in den Kliniken bei Hämaturien oftmals Braunfärbung des Harns und der Absorptionsstreifen des Methämoglobins gesehen. Diese Beobachtungen gaben den Anlaß zu der vorliegenden Arbeit.

Bei der Suche nach dem methämoglobinbildenden Agens galt es zunächst festzustellen, ob jedem menschlichen Harn die Fähigkeit zukäme, in einer Oxyhämoglobinlösung eine entsprechende Absorption zu erzeugen.

Es gelangten insgesamt etwa 50 Harne zur Untersuchung, die sämtlich Methämoglobin bildeten. Die Harne wurden zu verschiedenen Tageszeiten aufgefangen und stets frisch verwendet. Die spezifischen Gewichte schwankten zwischen 1005 und 1025. Je 5 ccm Harn wurden mit je 5 ccm einer 25%igen defibrinierten Katzen-, Hunde- oder Rinderblutlösung gemischt und in Erlenmeyer-Kölbchen offen aufgestellt. Als Test diente bei 1 cm Schichtdicke das Auftreten eines eben sichtbaren Absorptionsstreifens im roten Bereich des Spektrums (bei Beobachtung im Handspektroskop). Die genaue Messung der Lage (624—642 mμ) erfolgte in Stichproben im Gitterspektroskop.

Die Zeit, die bis zum Sichtbarwerden des Streifens verging, war für die einzelnen Harne verschieden. Die konzentrierteren erzeugten schon nach 1—3 Stunden eine Absorption, während die niedriger gestellten bis zu 10 Stunden brauchten. Länger als 12 Stunden wurden die Gemische nicht beobachtet, weil dann schon mit merklicher Zersetzung, insbesondere Nitritbildung durch Bakterienwuchs gerechnet werden mußte.

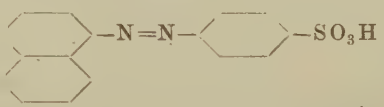
---

[1] Preyer, W.: Pflügers Arch. **1**, 437 (1868). — [2] Oettel, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **183**, 319 (1936).

Die Frage, ob Harn imstande sei, auch bei Sauerstoffabwesenheit Methämoglobin zu bilden, wurde in folgendem Versuch behandelt:

30 ccm einer 25%igen Blutlösung wurden 2 Stunden lang im Vakuum an der Wasserstrahlpumpe mit Stickstoff durchströmt, um das Oxyhämoglobin in Hämoglobin zu verwandeln. Mit der unter Stickstoff gehaltenen Hämoglobinlösung wurden 60 ccm Harn, der vorher ebenfalls evakuiert und mit Stickstoff durchströmt wurde, gemischt. Auch unter diesen Bedingungen bildete der Harn Methämoglobin. Die Zeit, in der die Ausbildung des Absorptionsstreifens vor sich ging, war sogar etwas kürzer als im gleichen Versuch bei Sauerstoffgegenwart.

In Dialysierversuchen wanderte der Methämoglobinbildner durch Kollodiummembranen nach einigen Stunden hindurch. Die Hülsen, die nach ihrer Herstellung immer Spuren von Nitrit enthielten, wurden vor ihrer Verwendung 24 Stunden lang gewässert, denn es mußte daran gedacht werden, daß vielleicht ein Salz der salpetrigen Säure oder die Säure selbst für die Oxydation des roten Blutfarbstoffes bestimmend sei. Deshalb wurde in mehreren Harnen der Nitritnachweis nach Griess[3] geführt, der darauf beruht, daß sich aus Sulfanilsäure und α-Naphtylamin in essigsaurer Lösung bei Gegenwart von Nitrit ein intensiv rot gefärbter Azokörper, die α-Naphtyl-azo-benzolsulfosäure bildet.



Mit Hilfe der Nitritprobe ließ sich in 1 ccm Wasser noch 0,01 γ Nitrit nachweisen. Die Eigenfarbe des Harns drückte die Empfindlichkeit auf etwa 0,1 γ Nitrit herunter. Die Stärke dieser Reaktion im Harn ließ darauf schließen, daß sich die Nitritkonzentration um ungefähr 1 γ pro ccm bewegte. Für die Methämoglobinbildung konnte Nitrit nicht in Betracht kommen, denn erst eine Konzentration von 10 γ rief nach etwa 3 Stunden eine Absorption im Roten hervor. Bei einer Verdünnung von 1 γ pro ccm war selbst nach 20 Stunden noch nichts zu sehen.

Durch mehrstündiges Kochen des Harns am Rückflußkühler konnte das Agens nicht zerstört werden. So wäre auch Hydroxylamin, das ja äußerst leicht zersetzlich ist, als Methämoglobinbildner auszuschließen.

Wasserstoffsuperoxyd hätte sich bei der Kochprozedur ebenfalls zersetzt. Durch langsames Eindampfen auf dem Wasserbade wurde die methämoglobinbildende Eigenschaft des Harns verstärkt. Wenn z. B. 5 ccm Normalharn mit 5 ccm einer 25%igen defibrinierten hämolysierten Blutlösung in 2 Stunden eine eben sichtbare Absorption erzeugten, so brauchten 5 ccm eines Konzentrates, das durch Eindampfen von 1000 ccm Normalharn

[3] Griess: Zitiert in Treadwells Analyt. Chem. I, 279. Verlag Deuticke, 1907.

auf 135 ccm gewonnen wurde, dazu nur 16 Minuten. Die Verdünnung des Konzentrates und die Zeit bis zum Sichtbarwerden des Methämoglobinstreifens zeigten folgendes Verhältnis:

ccm Konzentrat auf 5 ccm aufgefüllt und mit 5 ccm Blutlösung gemischt	Zeit bis zum Sichtbarwerden des Met-Hb-Absorptionsstreifens
0,5	5 Std.
1,0	2½ „
2,0	50 Min.
4,0	20 „

Als Methämoglobinbildner hätte weiterhin auch Acetaldehyd in Frage kommen können. Beim Eindampfen und Auffüllen des Harnes blieb nämlich die Fähigkeit, Methämoglobin zu bilden, nicht restlos erhalten. 5 ccm des auf das Ausgangsvolumen aufgefüllten Konzentrates brauchten längere Zeit bis zum Erscheinen des Methämoglobinstreifens als der Ausgangsharn. Das Verhältnis betrug etwa 3 : 2. Entweder ging nun beim Eindampfen etwas verloren, oder es wurde bei zunehmender Konzentration der im Harn gelösten Stoffe etwas zerstört. Die Möglichkeit wäre also nicht auszuschließen, daß es sich bei dem verlorengegangenen Rest um Acetaldehyd oder ein ähnliches Produkt handelt.

Der Methämoglobinbildner konnte an aktive Kohle adsorbiert werden. Bei diesen Versuchen wurden für je 1000 ccm Harn 30 g pulverisierte aktive Kohle von Schering-Kahlbaum benötigt. Die Kohle wurde vor ihrer Verwendung von Nitritspuren, die regelmäßig nachzuweisen waren, durch mehrmaliges Waschen mit verdünnter Salzsäure befreit und dann in dem zu entfärbenden Harn suspendiert. Das wasserhelle und klare Filtrat erzeugte innerhalb von 12 Stunden noch keinen Absorptionsstreifen. Die Kohle wurde nach 24stündigem Trocknen im Vakuumexsikkator mit verflüssigtem Phenol behandelt, in das das Agens überging. Das Phenol wurde im Vakuum mit Wasserdampf vertrieben und der wässrige dunkelbraun gefärbte Rückstand untersucht. Hier zeigte sich beim Mischen mit 25%iger Blutlösung in wenigen Sekunden Methämoglobin. Entsprechend angestellte Leerversuche ohne Harn fielen negativ aus. Die beschriebene Methode gestattete es also, das gesuchte Agens anzureichern. Die Verunreinigung des erhaltenen Produktes war jedoch noch so stark, daß versucht wurde, auf dem Wege der chromatographischen Adsorptionsanalyse weiter zu kommen. Als Adsorbentien kamen Quarzpulver, Aluminiumsilikat, Kieselgur, Magnesiumcarbonat und Permutit zur Anwendung. Die angestellten Versuche boten bei verschiedener Korngröße, verschiedener Rohrweite und -länge immer den gleichen Befund. Beim Durchtreiben eines Harnkonzentrates durch eine Säule und kontinuierlichem Auffangen gleicher Mengen Spülflüssigkeit bildeten die am stärksten gefärbten Portionen am raschesten Methämoglobin. Die Möglichkeit einer Methämoglobinbildung durch die Gruppe der sogenannten Harnfarbstoffe mußte also ins Auge gefaßt werden.

Von den verschiedenen Arten der Harnfarbstoffdarstellung wurde die modifizierte Methode von Weiss[4] benutzt, bei der aus frischem Harn durch Zusatz von Bleiacetat eine Fällung erzeugt wird, die aus den Bleiverbindungen der Urate, Carbonate, Phosphate und Sulfate besteht und Urobilin, Uroerythrin und die Chromogene der Indol- und Skatolgruppe quantitativ mitreißen soll. Die Fraktion der gelben Harnfarbstoffe oder Urochrome soll dabei in Lösung bleiben.

Die Fraktion des Urochroms kam zuerst zur Untersuchung.

Versuchsbeispiel.

1000 ccm Harn wurden mit 50 g pulverisierten, neutralen Bleiacetats verrührt und einige Stunden im Eisschrank sich selbst überlassen. Die überstehende Flüssigkeit wurde auf einer Nutsche vom Niederschlag abgesogen. Filtrat und Niederschlag wurden getrennt aufgearbeitet. Zur weiteren Reinigung wurde das Filtrat im Vakuum auf 500 ccm eingeengt und mit 30 g gewaschener nitritfreier aktiver Kohle entfärbt. Die gefärbte Komponente saß nun an der Kohle. In einem Elutionsversuch erwies sich verdünnte Ammoniaklösung als das geeignetste Elutionsmittel. In diesem Versuch wurden etwa gleiche Mengen Kohle mit gleichen Mengen Lösungsmittel gemischt und nach einiger Zeit filtriert. Die Aufstellung zeigt das Ergebnis.

Phenol. liquef.	färbte sich gelb
Methanol	blieb farblos
Benzol	blieb farblos
Aceton	färbte sich kaum merklich an
Ammoniaklösung	färbte sich gelb
Eisessig	färbte sich gelb
Essigsäure 20%	färbte sich schlechter als Eisessig
Petroläther	blieb farblos
Chloroform	blieb farblos
Äther	blieb farblos
Äthylacetat	blieb farblos
Amylalkohol	blieb farblos
Pyridinwasser 10%	färbte sich schwach an

Verdünnte Ammoniaklösung hatte den Vorteil, daß sich nach der Elution das Ammoniak im Vakuum bis zur Lackmusneutralität vertreiben ließ.

Das durch Elution mit Ammoniak erhaltene wässerige kanariengelbe Produkt bildete mit verdünnter Blutlösung Methämoglobin.

Der oben beschriebene Niederschlag, also die Fraktion der roten Farbstoffe, die nach Weiss an der Farbintensität des Harns den Hauptanteil hat, wurde mit einer ausreichenden Menge von tertiärem Natriumphosphat behandelt, wobei Blei als Phosphat ausfiel und die farbige Kom-

[4] Weiss, M.: Biochem. Z. **102**, 228 (1920); **112**, 61 (1920); **133**, 331 (1922); **134**, 269 (1922); **134**, 567 (1923); **201**, 337 (1928); **207**, 151 (1929); **233**, 354 (1931); Bertram, H.: Pflügers Arch. **108**, 109 (1905); Binz u. Laar: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **41**, 184 (1898); Fleming, Th.: J. biol. Chem. (Am.) **109**, XXXIII—XXXIV (1935); Klemperer, G.: Berl. Klin. Wschr. **1903**, S. 313; Miwa, T.: Klin. Wschr. **1935**, II, 1655; Moor, W. O.: Biochem. Z. **153**, 19 (1924); Schürhoff, P.: Pflügers Arch. **109**, 94 (1905); Zechmeister u. Cholnoky: Die chromatographische Adsorptionsmethode. Berlin. Verlag Julius Springer, 1937.

ponente in Lösung ging. Die klarzentrifugierte braunrote Lösung wurde mit verdünnter Salzsäure gegen Lackmus neutralisiert und mit Blutlösung angesetzt. Es zeigte sich sehr bald Methämoglobinbildung.

Ein vergleichender Versuch zwischen beiden Fraktionen hatte folgendes Ergebnis:

1000 ccm Harn wurden auf 500 ccm eingedampft.
5 ccm des Konzentrates und
5 ccm einer 25%igen Blutlösung wiesen nach
1 Std. einen eben sichtbaren Absorptionsstreifen auf.
5 ccm der auf 500 ccm aufgefüllten gereinigten Urochromfraktion und
5 ccm der entsprechenden Blutlösung wiesen nach
7 Std. einen Absorptionsstreifen auf.
5 ccm der auf 500 ccm aufgefüllten Urobilinfraktion und
5 ccm einer entsprechenden Blutlösung wiesen nach
1 Std. einen Absorptionsstreifen auf.

Die Fraktion der roten Harnfarbstoffe schien also in weit stärkerem Maße an der Methämoglobinbildung beteiligt zu sein als die Urochromfraktion.

Mit diesem Befund wurde die Untersuchung über die methämoglobinbildende Eigenschaft des Harns abgeschlossen.

Die beschriebenen Untersuchungen zeigten, daß menschliche Harne mit hohem spezifischen Gewicht in weit stärkerem Maße Methämoglobin bildeten als die spezifisch leichteren. Da beim Gesunden spezifisch hochgestellte Harne auch immer farbstoffreich sind, lag es nahe, den oder die Methämoglobinbildner unter den Harnfarbstoffen zu suchen. Da es sich ferner im Verlauf der chromatographischen Analyse herausstellte, daß die methämoglobinbildende Fähigkeit von der Färbung nicht zu trennen war, und sowohl die Fraktion der Urochrome wie auch die Gruppe der roten Harnfarbstoffe Methämoglobin entstehen ließen, kann man sagen, daß es wohl hauptsächlich die gefärbten Körper des Harns sind, die den Anlaß zur Umwandlung des zweiwertigen Hämoglobineisens in die dreiwertige Form des Methämoglobins geben.

Eine Erklärung für diesen Vorgang ist vielleicht darin zu suchen, daß die Harnfarbstoffe ein hohes Oxydationspotential besitzen und deshalb — auch bei Sauerstoffabwesenheit — in Blut-Harngemischen Methämoglobinbildung bewirken können. Müller[5] hat in seinen chemischen Studien am ikterischen Harn ein Bilirubin mit stark oxydierenden Eigenschaften beschrieben. Möglicherweise spielt dies Bilirubin hier auch eine Rolle.

Zusammenfassung.

1. Die Eigenschaft, mit Blutlösungen Methämoglobin zu bilden, kommt jedem menschlichen Harn in mehr oder minder stärkerem Maße zu.

2. Die Methämoglobinbildung erfolgte in Katzen-, Hunde- und Rinderblutlösung.

[5] Müller, A.: Z. physiol. Chem. **251**, 1 (1938).

3. Harne mit hohem spezifischen Gewicht bildeten rascher Methämoglobin als niedriggestellte.

4. In einem Blut-Harngemisch entstand auch bei Sauerstoffabwesenheit Methämoglobin.

5. Der Methämoglobinbildner durchwanderte Kollodiummembranen.

6. Nitrit konnte als wirksamer Stoff ausgeschlossen werden.

7. Durch Kochen ging die methämoglobinbildende Fähigkeit nicht verloren, sie wurde nur etwas vermindert.

8. Der Methämoglobinbildner ließ sich an aktive Kohle adsorbieren und mit Phenol eluieren.

9. Bei der chromatographischen Analyse bildeten die am stärksten gefärbten Portionen am raschesten Methämoglobin.

10. Die nach der Methode von Weiss dargestellten Harnfarbstoff-Fraktionen bildeten besonders intensiv Methämoglobin, so daß wohl die Farbstoffe selbst die Oxydationsmittel für den Blutfarbstoff darstellen.

Aus dem Pharmakologischen Institut Berlin.

Über die Wirkung von Thymol auf die Schilddrüse*.

Von

Hubert Möller.

(Eingegangen am 2. Dezember 1938.)

In Gilgit (Kashmir) befindet sich ein Brunnen, dessen Wasser Kröpfe erzeugen soll. Mc. Carrison filtrierte das Wasser durch Tonkerzen und benutzte den Filterrückstand zu seinen Experimenten. Im Selbstversuch und bei 6 von 12 Versuchspersonen entwickelte sich bei tägl. Genuß nach 12 Tagen ein deutlicher Kropf. Wurde das Wasser vorher gekocht, so blieb die Kropfbildung aus. Mc. Carrison nahm aus diesem Grunde an, die Ursache für die Entstehung der Kröpfe sei ein Lebewesen, ein Darmparasit. Um diese Annahme noch weiter zu stützen, gab er Personen, bei denen künstlich ein Kropf erzeugt war, und anderen Kropfträgern das als Darmdesinfizienz und Wurmmittel bekannte Thymol täglich 2mal 0,64 g. Bei dieser Behandlung gingen die Kröpfe in der Zeit von $^1/_2$ bis $3^1/_2$ Monaten prompt zurück.“ [1]

Diese Bemerkung verhalf Edens[2] zu guten therapeutischen Erfolgen, als er Patienten beobachtete, die über längere Zeit bis mehrere Jahre thymolhaltige Zahnpasten oder Mundwässer benutzt hatten. Bei allen diesen Patienten waren Zeichen z. T. schwerer Thyreotoxikosen aufgetreten. Im Vordergrund der Beschwerden standen Sensationen von seiten des Herzens und Pulsbeschleunigungen. Die Patienten fühlten sich matt und abgespannt, waren nervös und klagten über Schweißausbrüche, auch über „Vergrößerung“ der Augen. Überdies hatten alle Patienten erheblich an Gewicht abgenommen. Bei zwei Personen wurde der Grundumsatz gemessen und zeigte eine Erhöhung um 34 % bzw. 16 %.

Thymol = m-Methyl-o-isopropylphenol ist bekanntlich im ätherischen Öl von Thymus vulgaris, einer südeuropäischen Labiate, enthalten[3]. Doch wurde es, bevor synthetische Verfahren zur Herstellung des Thymols ausgearbeitet waren, fast ausschließlich aus dem Öl der Ajowanfrüchte gewonnen, das 45—50 % Thymol enthält. Heute wird es vorwiegend durch technische Synthese gewonnen[3].

Medizinisch findet das Thymol Verwendung als Antisepticum, Antipyretikum, Anthelminthicum und als Bestandteil vieler Hustenmittel[4,5].

* D. 11.

[1] Zitiert n. Edens: Med. Klin. **1917**, Nr. 30. — [2] Edens: Ebenda **1917**, Nr. 30; **1932**, Nr. 14. — [3] K. Meyer: Pharmaz. Ztg. **1936**, S. 81/14. — [4] K. Meyer: Ebenda **1936**, 81/14 u. H. H. Meyer u. R. Gottlieb: Pharmakologie 8. Aufl., S. 672, 668, 482. — [5] Gordonoff: Z. exper. Med. **79**, (1931).

Es gilt durchweg als harmloses Mittel. In der Literatur findet sich nur eine Mitteilung über einen Todesfall durch 6 g Thymol bei einem anämischen Patienten[3]. Bekanntere thymolhaltige Präparate sind: Pyrenol, Arrhovin, Pertussin, Vitonpastillen, Bergmanns Kaupastillen, Aristol, Thymipin, Thymobromal, Thymobronchin, Thymoform, ferner das amerikanische Mundwasser Listerin und die Kolynos Zahnpaste[6].

Bei der medizinisch therapeutischen Verwendung handelt es sich im allgemeinen um eine zeitlich kurze Dauer der Einwirkung auf den Organismus. Anders ist es bei dem Gebrauch von Mundwässern und Zahnpasten. Letzteres war bei den von Edens beobachteten Patienten der Fall. Außer den von ihm gemachten Beobachtungen der Schilddrüsenwirksamkeit des Thymols findet sich in der Literatur noch der Hinweis, daß Thymol die Entstehung des Kohlkropfes beim Kaninchen zu hemmen vermag[7].

Die Beobachtungen von Edens wurden zum Anlaß, das Thymol im Tierexperiment zu prüfen.

Als Erfolgsorgan mußte demnach bei der Darreichung von Thymol die Schilddrüse Gegenstand der Untersuchung sein. Es konnte erwartet werden, daß der Sauerstoffverbrauch sowie die histologische Untersuchung der Schilddrüse eine Wirkung aufdecken würden. Beide Möglichkeiten wurden miteinander kombiniert.

Die Stoffwechselapparatur wurde nach dem Benedictschen Prinzip selbst gebaut. Es handelt sich demnach um ein geschlossenes System. Der Tierkäfig wurde in ein Wasserbad gehängt, das mittels Toluol-Quecksilber-Regulators auf konstanter Temperatur gehalten wurde. Diese betrug 32°, nämlich die kritische Temperatur nach Verzár[8]. Das gesamte System faßte $1^1/_2$ Liter Luft. Eine Pumpvorrichtung saugte den Luftstrom kontinuierlich durch die Apparatur. In einer Zeit von 4 Minuten wurde die Luft einmal gewechselt. Im Laufe der Versuchsdauer wurde die gesamte Apparatur mehrere Male auf ihre Dichte geprüft und das Spirometer geeicht. Die Kohlensäure wurde durch Waschflaschen mit 40—50%iger Kalilauge absorbiert. Der Sauerstoffverbrauch wurde mit einem Kroghschen Spirometer gemessen, der auf einer berußten Trommel schrieb.

Als Versuchstiere dienten männliche infantile Meerschweinchen, die, wie bekannt, für Schilddrüsenuntersuchungen besonders geeignet sind. Die Nahrung der Tiere bestand aus reichlich Heu, Rüben und Hafer. Vor Beginn jedes Versuchs waren die Tiere mindestens 10 Stunden nüchtern. Zunächst wurden sie in täglich 3stündigen Vorversuchen gewöhnt. Die Stoffwechselversuche wurden (mit Ausnahme der 1. Gruppe) täglich bei abgedunkeltem Licht und zur gleichen Zeit vorgenommen. Das Thymol wurde in Öl gelöst subcutan gespritzt, die Kontrolltiere erhielten kleine Mengen Olivenöl.

---

[6] Edens: Med. Klin. **1932**, Nr. 14. — [7] Trendelenburg, P.: Die Hormone, 2. Bd., S. 194. — [8] Verzár: Biochem. Z. **240** (1931).

In dieser Weise wurden 3 Gruppen zu je 4 Tieren im Stoffwechselapparat untersucht. Der Verlauf bei der 1. Versuchsgruppe ist aus der Tabelle 1 zu ersehen. Der Sauerstoffverbrauch wurde pro kg Tiergewicht auf 24 Stunden in g berechnet.

Tabelle 1.

Tag	Ms. 21			Ms. 20			Ms. 17			Ms. 18		
	Dosis Thym. mg	Gewicht g	O_2 g	Dosis Thym. mg	Gewicht g	O_2 g	Dosis Thym. mg	Gewicht g	O_2 g	Dosis Thym. mg	Gewicht g	O_2 g
1. XII.	—	210	35,7	—	225	31,2	—	245	30,0	—	—	—
2. XII.	—	213	35,1	—	230	27,1	—	245	24,0	—	—	—
3. XII.	—	215	35,2	—	230	31,6	—	248	38,4	—	—	—
4. XII.	—	220	35,2	—	—	—	—	255	32,7	—	220	39,6
6. XII.	—	235	35,2	—	250	34,0	—	255	34,0	—	230	36,9
7. XII.	—	238	35,6	—	255	29,3	—	—	—	—	235	38,4
9. XII.	—	242	34,8	—	255	30,0	—	270	34,0	—	239	33,6
10. XII.	—	230	37,8	—	248	32,8	—	260	37,2	—	230	36,5
14. XII.	—	238	34,4	—	255	—	—	281	32,0	—	255	32,8
15. XII.	60	234	35,2	60	253	28,0	—	—	—	—	—	—
16. XII.	60	235	31,0	60	250	29,0	—	265	34,6	—	245	36,0
17. XII.	80	240	32,5	80	260	30,1	—	278	30,1	—	258	—
18. XII.	80	243	32,5	80	273	32,2	—	276	38,0	—	259	31,1
20. XII.	80	250	33,0	80	266	29,0	—	285	33,3	—	258	32,7
22. XII.	100	250	33,6	100	266	29,4	—	292	32,8	—	275	31,0
23. XII.	100	260	31,3	100	273	30,0	—	—	—	—	—	—
29. XII.	100	—	—	100	—	—	—	—	—	—	—	—
30. XII.	100	270	35,3	100	283	29,0	—	300	32,3	—	305	29,8
31. XII.	—	275	37,3	—	294	30,0	—	—	—	—	—	—
Schilddrüse:		+			+			−			−	

Wie aus Tabelle 1 zu ersehen ist, ist der Sauerstoffverbrauch in der Thymolperiode unverändert geblieben. Am Schluß des Versuches wurden die Tiere durch Nackenschlag getötet und die Schilddrüsen zur histologischen Untersuchung in Formalin eingelegt. Es wurden Paraffinschnitte angefertigt und diese mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Die Schilddrüsen der Kontrolltiere zeigten das Bild einer ruhenden Ms.-Schilddrüse, wogegen die Schilddrüsen der mit Thymol behandelten Tiere deutlich aktiv waren (aktiv = +; ruhend = −).

Weitere Befunde zeigen Tabelle 2 und 3.

Bei nicht verändertem Sauerstoffverbrauch zeigten auch bei dieser Gruppe die Schilddrüsen der Versuchstiere gegenüber den Kontrolltieren eine deutliche Aktivierung.

Zu Tabelle 3. Im mikroskopischen Bilde zeigte Nr. 64 eine leichte Aktivierung gegenüber den anderen 3 Tieren, die keinerlei Zeichen von Aktivierung erkennen lassen.

Tabelle 2.

Tag	Ms. 1			Ms. 2			Ms. 3			Ms. 4		
	Dosis Öl ccm	Gewicht g	O_2 g	Dosis Thym. mg	Gewicht g	O_2 g	Dosis Öl ccm	Gewicht g	O_2 g	Dosis Thym. mg	Gewicht g	O_2 g
28. I.	—	230	36,0	—	185	38,0	—	195	41,0	—	190	36,4
29. I.	—	240	37,0	—	—	—	—	200	45,5	—	—	—
31. I.	—	220	40,0	—	192	40,0	—	195	40,7	—	190	53,0
1. II.	—	225	39,0	—	197	35,2	—	200	37,0	—	203	37,0
2. II.	—	225	33,0	—	205	37,7	—	200	38,5	—	200	38,0
3. II.	—	227	34,0	—	205	37,7	—	202	34,0	—	200	35,0
4. II.	0,1	228	32,0	20	205	42,0	0,2	202	34,0	40	204	38,7
5. II.	0,1	230	33,0	20	200	37,0	0,2	205	36,0	40	212	34,0
6. II.	0,1	—	—	20	208	36,0	0,2	—	—	40	215	34,0
7. II.	0,1	235	31,0	20	217	32,2	0,2	207	34,5	40	224	34,0
8. II.	0,1	237	30,0	20	215	34,0	0,2	205	33,0	40	220	33,0
9. II.	0,1	237	30,0	20	212	33,4	0,2	210	34,6	40	230	31,0
10. II.	0,1	225	31,2	20	210	36,0	0,2	—	—	40	231	35,3
11. II.	0,1	—	—	20	200	38,0	0,2	210	35,1	40	—	—
12. II.	0,1	220	37,4	20	—		0,2	215	33,0	40	215	32,0
Schilddrüse:		—			+			—			+	

Tabelle 3.

Tag	Ms. 64			Ms. 78			Ms. 38			Ms. 89		
	Dosis Thym. mg	Gewicht g	O_2 g	Dosis Öl ccm	Gewicht g	O_2 g	Dosis Thym. mg	Gewicht g	O_2 g	Dosis Öl ccm	Gewicht g	O_2 g
7. II.	—	180	43,0	—	140	41,0	—	160	48,5	—	147	35,4
8. II.	—	160	41,6	—	143	40,0	—	147	40,0	—	150	40,0
9. II.	—	164	34,0	—	150	42,0	—	151	38,2	—	155	40,3
10. II.	20	164	35,0	0,1	160	42,4	40	151	37,5	0,2	160	41,3
11. II.	20	164	37,3	0,1	148	48,0	40	155	35,0	0,2	150	44,8
12. II.	20	170	36,5	0,1	160	44,0	40	153	40,9	0,2	160	37,2
13. II.	20	170	36,0	0,1	162	38,4	40	—	—	0,2	168	36,3
14. II.	20	—	—	0,1	160	33,0	40	165	48,1	0,2	168	36,3
15. II.	20	170	32,0	0,1	150	48,0	40	167	37,1	0,2	157	40,9
16. II.	20	180	39,0	0,1	157	36,5	40	170	35,2	0,2	162	41,5
17. II.	20	182	37,3	0,1	—	—	40	170	40,3	0,2	—	—
Schilddrüse:		+ —			—			—			—	

Aus den Stoffwechselversuchen geht eindeutig hervor, daß eine Änderung im Sauerstoffverbrauch durch Thymol in der angegebenen Dosis und Versuchsanordnung nicht hervorgerufen werden kann. Ein Vergleich der Schilddrüsenschnitte zeigt dagegen, daß von 6 mit Thymol behandelten Tieren 5 gegenüber den Kontrolltieren deutlich aktiver geworden sind. Auf Grund der angeführten Versuche kann zunächst gesagt werden, daß durch Thymol die Schilddrüse des infantilen Meerschweinchens aktiviert wird ohne daß eine Steigerung des Sauerstoffverbrauchs auftritt.

Zur Erhärtung des Befundes, durch Thymol eine Aktivierung der Schilddrüse erzielen zu können, wurden mehrere Serien von Tieren mit Thymol behandelt, ohne daß sie im Stoffwechselapparat untersucht wurden. Am Ende des Versuchs wurden die Tiere durch Nackenschlag getötet und die Schilddrüsen, wie oben beschrieben, untersucht.

Die nächste Tabelle 4 zeigt die Versuchsanordnung und die histologische Auswertung.

Tabelle 4.

Gruppe	Anzahl der Tiere	Durchschnittsgewicht g	Tägliche Dosis pro Tier	Zeit	Schilddrüse		
					+	schwach +	−
A	3 Versuchstiere	230	60 mg Thym.	10. XI.	2	—	1
	2 Kontrolltiere	233	—	—25. XII. 1937	—	—	2
B	7 Versuchstiere	243	80 mg Thym.	20. XII.	5	1	1
	7 Kontrolltiere	207	0,4 ccm Öl	—5. I. 1938	1	2	4
C	4 Versuchstiere	179	20 mg Thym.	31. I.	1	2	1
	2 Kontrolltiere	172	0,1 ccm Öl	—10. II. 1938	—	1	1
D	6 Versuchstiere	197	40 mg Thym.	2. II.	4	1	1
	4 Kontrolltiere	205	0,2 ccm Öl	—16. II. 1938	—	2	2

Ein Vergleich der Versuchstiere mit den Kontrolltieren zeigt deutlich, daß durch die Thymolgaben das histologische Bild in der Mehrzahl der Fälle im Sinne einer Aktivierung umgestaltet wurde. Läßt man in beiden Versuchsreihen die wenig ausgesprochenen Fälle (schwach +) bei Seite, so würden unter 20 thymolbehandelten Tieren 60% mit klar positivem Befund, 20% mit negativem übrigbleiben; in der Kontrollreihe dagegen befinden sich unter 15 Tieren 7% mit positivem gegenüber 60% mit negativem Befund. Auffällig war bei der Durchsicht der Präparate, daß die Aktivierung vorwiegend in den zentralen Partien der Schilddrüsen stattgehabt hatte. Als Zeichen der Aktivierung wurden betrachtet: die Vermehrung des interstitiellen Gewebes, die Erhöhung des Follikelepithels, der Blutreichtum und die Umwandlung des Zellkernes, der in der ruhenden Schilddrüse spindelförmig, in der aktivierten mittelständig und rund geformt ist. Das Schilddrüsenbild, das durch Thymolgaben hervorgerufen werden kann, ähnelt sehr dem durch Jod erzeugten. Auch ist bekannt, daß bei Aktivierung der Schilddrüse durch kleine Jodgaben ebenfalls keine Stoffwechselsteigerung eintritt[9].

[9] Loeb, L.: Klin. Wschr. Jahrg. 11, Nr. 51 (1932); Trendelenburg, P.: Die Hormone, Bd. 2.

Zusammenfassend läßt sich auf Grund der angestellten Versuche sagen, daß durch Thymol die Schilddrüse des infantilen Meerschweinchens aktiviert werden kann ohne Steigerung des Stoffverbrauches.

Auf Grund der Versuchsergebnisse glaube ich sagen zu können, daß meine histologischen Schilddrüsenbefunde die von Edens an überempfindlichen Menschen gemachten Erfahrungen in der allgemeineren Form, nämlich auch für Versuchstiere bestätigen. Zwar zeigten sich auch hier individuelle Unterschiede der Empfindlichkeit, doch war offenbar eine ausgesprochene Überempfindlichkeit keine notwendige Voraussetzung für die Wirkung. Wir müssen im Thymol ein schilddrüsenwirksames Agens sehen.

Herrn Prof. Dr. Kuschinsky danke ich bestens für die mir während der Arbeit gegebenen Ratschläge und für die kritische Sichtung des histologischen Materials.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen.)

Die Förderung der Muskelzuckung durch Alkohol als Erholungshemmung.

Von

Prof. Dr. Ernst Frey, Direktor des Instituts.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Dezember 1938.)

Die fördernde Wirkung, welche der Alkohol anfangs auf die Muskelzuckung ausübt, ist seit langem bekannt; schon A. v. Humboldt[1] beschreibt sie 1797; ferner liegen Untersuchungen von Blumenthal[2], von Scheffer[3], von Lee und Harrold[4] von Lee und Salant[5], von Verzár[6], von Lee und Levine[7], von Lucas[8] und von Scarborough[9] vor. Die älteren Autoren sprechen meist von einer Steigerung der Erregbarkeit, wenn sie die Vergrößerung der Zuckung meinen. Diese Erhöhung der Zuckung, die auch während einer Ermüdungsreihe durch rhythmische Einzelreize auftritt, wird meist als Hemmung der Ermüdung aufgefaßt (siehe den Artikel von Riesser und Simonson[10]) und es wird von einer Beschleunigung der Restitutionsprozesse gesprochen.

Der erste, der diese anfängliche Förderung der Muskelkontraktion auf eine Hemmung der Erholung zurückführte, war Fröhlich[11]. Er faßte die Erhöhung der Zuckung als das Ergebnis der Verlängerung der Kontraktionswelle auf; bei einer solchen befinden sich mehr Einzelabschnitte gleichzeitig in maximaler Kontraktion. Diese Auffassung ist irrig, weil die Länge der Kontraktionswelle dazu viel zu groß ist; sie wurde schon von Rollet[12] gemessen und ist von Fenn[13] dargestellt worden. Ich[14] habe mich 1922 gegen diese Auslegung von Fröhlich gewandt. Bei einer Einzelzuckung des Sartorius befindet sich fast der ganze Muskel gleichzeitig in maximaler Kontraktion. Ich habe durch Bänderung des Muskels und Photographie der Verkürzung auf einer fallenden photographischen Platte gezeigt, daß das gereizte Ende gerade erst zu erschlaffen beginnt, wenn die maximale Kontraktion das andere Ende erreicht hat,

---

[1] Humbold, A. v.: Versuche über die gereizte Muskel- und Nervenfaser. 2. Kapitel, Alkohol. — [2] Blumenthal: Pflügers Arch. **62**, 513 (1896). — [3] Scheffer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **44**, 24 (1900). — [4] Lee u. Harrold: 5. intern. Physiol.-Kongr., Turin 1901. — [5] Lee u. Salant: Amer. J. Physiol. **8**, 61 (1902). — [6] Verzár: Pflügers Arch. **128**, 398 (1909). — [7] Lee u. Levine: Amer. J. Physiol. **30**, 389 (1912). — [8] Lucas: J. Physiol. (Brit.) **46**, 470 (1913). — [9] Scarborough: J. Pharm. a. exper. Ther. **17**, 129 (1921). — [10] Handb. d. norm. u. path. Physiol. VIII/1, S. 335, 347. — [11] Fröhlich: Erg. Physiol. **16**, 40 (1913). — [12] Rollet: Pflügers Arch. **52**, 201 (1892). — [13] Fenn: Handb. d. norm. u. path. Physiol. VIII/1, S. 175 (1925). — [14] Frey: Dtsch. med. Wschr. **1922**, Nr. 26.

wie die Ausmessung der einzelnen Muskelabschnitte ergab. Bethe[15] hat später solche Bilder und ihre Ausmessungen wiedergegeben, die mit dieser Methode gewonnen sind.

Da nun eine Verlängerung der Kontraktionswelle die Erhöhung der Muskelzuckung nicht erklären kann, so muß die Förderung der Zuckung durch Alkohol (und ebenso durch Kampfer und andere erregende Stoffe) auf einem anderen Vorgang beruhen, nämlich auf einer stärkeren Zusammenziehung jedes einzelnen Muskelabschnittes. Wie dies zustande kommt, habe ich früher[16] u. [17] auseinandergesetzt und gezeigt, daß die Hemmung der Erholung nicht nur zu einer Dehnung der Muskelkurve, sondern auch zu einer Erhöhung derselben führen muß, wenn man sich die Stoffwechselvorgänge dabei vor Augen führt.

Es lassen sich aber diese Fragen durch den Versuch prüfen.

1. Dickenzunahme des Muskels unter Alkohol.

Nach der Auffassung von der Verlängerung der Kontraktionswelle durch Alkohol muß der Querdurchmesser des Sartorius bei der Zuckung nicht stärker zunehmen als vor der Alkoholgabe; ist die Kontraktion wirklich in jedem Abschnitt größer, so muß die Dickenzunahme stärker ausfallen als ohne Alkohol.

Abb. 1. Dickenzunahme des Sartorius unter Alkohol. Unten: Normal. Mitte: 5% Alkohol nach 1 Min. Oben: Ebenso nach 3 Min.

Man sieht, daß eine deutliche Erhöhung der Dickenzunahme des Muskels nach Alkohol eingetreten ist, daß also jeder einzelne Muskelabschnitt sich stärker kontrahiert hat. Die Zunahme der Zuckungshöhe nach Alkohol kann also nicht auf Dehnung der Kontraktionswelle, welche über den Muskel hinläuft, beruhen. — Sodann sieht man, daß auch die Schließungsschläge vom Muskel beantwortet werden, auf die der Muskel vorher nicht reagierte; es hat also die Erregbarkeit gegenüber länger dauernden, aber schwächeren Reizen (siehe Entartung) zugenommen. Auf der oberen letzten Kurve tritt auch die Dehnung der Zuckungen hervor.

2. Dickenzunahme bei der tetanischen Reizung.

Dies berührt eine Frage, die ebenfalls von Fröhlich[11] behandelt wird, nämlich die tetanische Kontraktion. Fröhlich faßte den Tetanus als die Summe kurzer Einzelwellen auf, die hintereinander über den Muskel hinlaufen, eine Anschauung, die in einzelne Lehrbücher übergegangen ist. Auch hier kann man die Frage durch Messung der Dicke des Muskels

[15] Bethe u. Happel: Pflügers Arch. **201**, 157 (1923). — [16] Frey: Ebenda **184**, 156 (1920). — [17] Frey: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **98**, 21 (1923).

entscheiden, die Frage nämlich, ob die tetanische Verkürzung nur die Summe hintereinander laufender Einzelzuckungen ist oder von einer wirklich stärkeren Zusammenziehung jedes einzelnen Muskelabschnittes beim Tetanus herrührt. Bei Summation von lauter Einzelwellen muß die Dickenzunahme bei der Einzelzuckung und beim Tetanus gleich sein; bei wirklich stärkerer Zusammenziehung muß sie beim Tetanus größer sein als bei der Einzelzuckung.

Die Dickenzunahme ist beim Tetanus erheblich größer, es befindet sich also jeder einzelne Muskelabschnitt in stärkerer Kontraktion.

Abb. 2. Dickenzunahme des Sartorius bei einem Öffnungsschlag und beim Tetanus.

3. Wie groß kann eine Summation der Wellen ausfallen?

Wenn auch die Auffassung vom Tetanus als der Summe hintereinander laufender Einzelwellen nicht zu Recht besteht, so könnte doch eine solche

Abb. 3. Reizung des Sartorius am Ende und in der Mitte; die Größe der Verkürzung ist bei Reizung der Mitte nur 3% höher und etwas kürzer.

Summation in geringem Grade eintreten, da ja tatsächlich nicht alle Muskelabschnitte gleichzeitig in maximaler Kontraktion sind. Um davon eine Vorstellung zu gewinnen, habe ich den Sartorius mit zwei Elektroden versehen, deren eine am Ende des Muskels, deren andere in der Mitte des Muskels angebracht ist. Bei dieser Anordnung kann man einfach durch Stromwenden bald die reizende Kathode ans Ende, bald in die Mitte des Muskels verlegen. Bei Reizung am Ende läuft dann eine Kontraktionswelle bis zum anderen Ende, bei Reizung der Mitte laufen zwei von der Mitte nach beiden Enden.

Man sieht, daß der Unterschied der Verkürzung durch zwei Kontraktionswellen und durch eine solche nur ganz unbedeutend (= 3%) ist. Bei Reiz in der Mitte ist die Zuckung etwas verkürzt. (Der Hebel muß natürlich zwischen den beiden Reizen liegenbleiben, damit die Reibung gleichbleibt.)

4. Die Ursache der Kontraktionserhöhung durch Alkohol.

Es findet also unter Alkohol tatsächlich eine stärkere Kontraktion des Muskels in seinen einzelnen Abschnitten statt. Ich hatte diese stärkere Zusammenziehung ebenso wie Fröhlich auf eine Erholungsstörung zurückgeführt, aber nicht mehr auf die Verzögerung der Erschlaffung. Wenn man die inzwischen gefundenen Stoffwechselvorgänge im Muskel mit der Form der Muskelzuckung in Einklang bringt, wie ich dies früher[16, 14, 17] tat, so muß man die Muskelzuckung als einen sekundären Vorgang, als eine Änderung des kolloidalen Zustandes (wie etwa eine Quellung) auffassen, die durch eine explosionsartig entstehende Kontraktionssubstanz (wir hielten damals die Milchsäure dafür) ausgelöst wird. Diese Kontraktionssubstanz entsteht aus einer vorrätig gehaltenen Betriebssubstanz (damals Milchsäuremuttersubstanz oder Lactacidogen genannt), welche sofort wieder nach ihrer Zersetzung resynthetisiert wird. Es entsteht also die Kontraktionssubstanz plötzlich und verschwindet schnell wieder. Die Formveränderung des Muskels oder die Spannungsentwicklung strebt nach einer schon während der Zuckung immer mehr schwindenden Kontraktionssubstanz; dadurch wird bei der Einzelzuckung die entstehende Menge der Kontraktionssubstanz nur zum kleinen Teile ausgenutzt. Wenn nun die Resynthese der Kontraktionssubstanz zur Betriebssubstanz verzögert wird, so können die sekundären Prozesse der Formveränderung mehr Zeit finden, sich der jetzt länger vorhandenen Kontraktionssubstanz anzugleichen, und die Zuckung fällt größer aus. Dabei ist der Wiederaufbau der Betriebssubstanz der eigentliche Lebensvorgang; ist er gänzlich aufgehoben, so tritt die Kontraktur ein. Diese Auffassung erklärt sowohl die Erhöhung der Zuckung, als auch die Dehnung der Kurve und die Neigung zur Kontraktur, die man bei solchen Versuchen so häufig beobachtet. Ich habe diese Verhältnisse 1920[16], 1922[14] und 1923[17] geschildert und abgebildet; auch hat Hill[18] später ein solches Schema der Muskelzuckung gegeben.

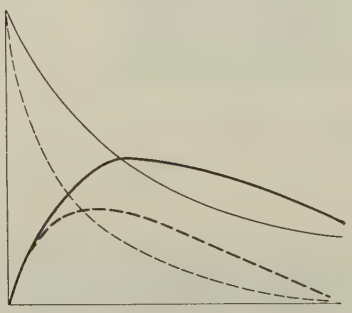


Abb. 4.
Dünn: Schwindende Kontraktionssubstanz.
Dick: Muskelzuckung.
Gestrichelt: Normal.
Ausgezogen: Nach Alkohol.

5. Die Wirkung von Alkohol bei der tetanischen Kontraktion.

Es fiel mir auf, daß in einem Stadium der Vergiftung, wo die Einzelzuckung nach Alkohol oder Kampfer deutlich erhöht ist, der Muskel auf

[18] Gasser u. Hill: Proc. roy. Soc., Lond. — Ser. B: Biol. Sci. **96**, 398 (1924); zit. n. Handb. d. norm. u. path. Physiol. VIII/1, S. 176 (1925).

den tetanischen Reiz hin versagt. Würde es sich um Summation der einzelnen Kontraktionswellen handeln, so müßte die fördernde Wirkung des Alkohols sich erst recht bei der tetanischen Reizung zeigen. Dies ist aber keineswegs der Fall. Auch dies Verhalten ist einleuchtend, wenn man sich die Stoffwechselvorgänge vor Augen führt. Bei einem tetanischen Reiz wird nämlich die inzwischen wieder aufgebaute Betriebssubstanz durch die folgenden Reize immer wieder aufs neue zersetzt (Frey[14]). Es ist also notwendig, daß der Muskel während des Tetanus immerfort zwischen zwei Reizen aus der Kontraktionssubstanz neue zersetzungsfähige Betriebssubstanz aufbaut, sonst finden die späteren Reize keine Betriebssubstanz mehr vor. Wird also die Erholung, d. h. die Bereitstellung neuer Betriebssubstanz gehemmt, so muß der Tetanus leiden; es kommt daher bei der Alkoholwirkung zwar zu einer Vergrößerung der Einzelzuckung, aber zu einem Versagen bei der tetanischen Reizung. Für den Kampfer habe ich[17] dies Verhalten schon abgebildet. Letzten Endes liegt dies daran, daß durch die Resynthese aus der Kontraktionssubstanz wieder die Betriebssubstanz gebildet wird — und zwar, wie wir heute wissen, durch eine Folge von Reaktionen, die hintereinander ablaufen. Tritt nun eine Störung in diesen erholenden Reaktionen ein, -- und die Dehnung der Zuckung, also das längere Bestehen der Kontraktionssubstanz nach Alkohol beweist eine solche Erholungsstörung — so muß auch die Bereitstellung der Betriebssubstanz, welche die neue Energie liefern soll, unvollständig sein.

Nun hat Fröhlich[11] bei der Abkühlung dies gegensätzliche Verhalten beobachtet und abgebildet (S. 48): Die tetanische Reizung liefert eine Kontraktion, die in der Kälte, wo die Erholung langsamer einsetzt, kaum höher ist als die Einzelzuckung; bei langsamen Reizen (alle 2 Sekunden) dagegen tritt in der Kälte eine Summation der Zuckungen durch Dehnung der einzelnen Kurven ein. Es ist ja überhaupt die „Summation der Zuckungen" eine stärkere Zuckung durch die Summation der Mengen von Kontraktionssubstanz; die schwindende Kontraktionssubstanz wird wieder durch den zweiten Reiz aufgefüllt, soweit eben der Muskel inzwischen schon wieder die Betriebssubstanz daraus aufgebaut hat. Die Kurven von Fröhlich (S. 48) sind sehr überzeugend (die Unterschriften sind verwechselt), aber sie widerlegen eigentlich schon seine Auffassung von den vielen Einzelwellen, die hintereinander über den tetanisierten Muskel laufen und sich summieren sollen; die tetanische Kontraktion ist ja durch die Kälte so schwer geschädigt.

Ich habe nun diese Verhältnisse für den Alkohol untersucht, um zu zeigen, daß bei langsamen Reizen die Zuckungen durch den Alkohol vergrößert werden, daß aber bei tetanischer Reizung der Muskel versagt und keinen glatten Tetanus mehr liefert.

Später kommt es dann zu starker Dehnung der Zuckung, also zur Ausbildung einer Kontraktur.

Es ist also die Störung der Erholung des Muskels durch Alkohol, die Ursache aller Erscheinungen: Der anfänglichen Erhöhung der Einzelzuckung, des Versagens bei der tetanischen Reizung, der Neigung zu Kontraktur sowie des schließlichen Kleinerwerdens der Zuckungen. Nur die Lähmung, die z. B. ohne Reiz beim Einbringen des Muskels in Alkohollösungen eintritt, ist eine „animale" Narkose, wo die Umsetzung des Reizes in die Erregung aufgehoben ist, keine „vegetative" Narkose wie die hier beschriebenen Erscheinungen (Frey[14])*.

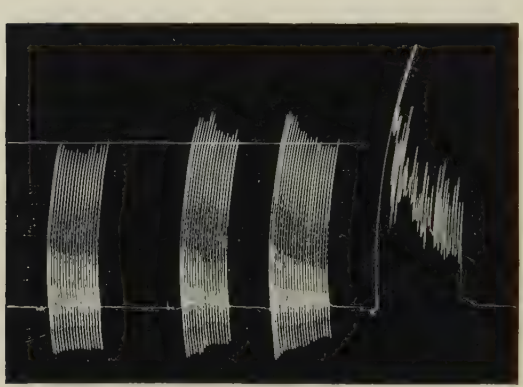


Abb. 5. Sartorius, 90 Reize in der Min. Erst normal, dann 5 % Alkohol nach 1 Min., nach 3 Min. sofort darauf tetanische Reizung.

Abb. 6. Sartorius, 15 und 20 Min. in 4 % Alkohol, 90 Reize in der Min.

6. Zusammenfassung.

1. Durch Alkohol wird nicht nur die Einzelzuckung größer, sondern auch die Dicke des Muskels. Es ist also tatsächlich die Zusammenziehung jedes einzelnen Muskelabschnittes größer geworden. D. h. aber: Die Erhöhung der Zuckung ist nicht durch Verlängerung der Kontraktionswelle zustande gekommen.

2. Auch die Dickenzunahme des Muskels bei der tetanischen Kontraktion ist größer als bei der Einzelzuckung; also ist der Tetanus nicht die Summe von Einzelkontraktionswellen, die hintereinander über den Muskel hinlaufen.

3. Die Summation zweier Kontraktionswellen ist außerordentlich gering. Die Zuckung des Muskels bei Reizung an einem Ende und bei Reizung in der Mitte (wo also zwei Wellen gleichzeitig über ihn hinlaufen), ist fast gleich hoch; der Unterschied beträgt nur 3%.

4. Die Ursache der Vergrößerung der Einzelzuckung durch Alkohol ist die Hemmung des Wiederaufbaues der Kontraktionssubstanz zur Be-

* „Wenn der Revolver bei Druck am Abzug nicht losgeht, so ist er entweder gesichert oder er ist nicht geladen." (= animale und vegetative Narkose.)

triebssubstanz; die formverändernden sekundären Prozesse haben Zeit, der sonst schnell verschwindenden Kontraktionssubstanz nachzukommen. Dadurch wird die Zuckung nicht nur größer, sondern auch länger.

5. Die tetanische Kontraktion wird durch Alkohol geschädigt, auch in einem Stadium der Vergiftung, in dem die Einzelzuckung gefördert erscheint, weil zum Tetanus immer wieder schnell hergestellte zersetzbare Betriebssubstanz nötig ist. Die Reize zerlegen sie immer wieder aufs neue zur Kontraktionssubstanz, und nun können die Formveränderungen die Kontraktionssubstanz voll ausnutzen. Nach Alkohol leidet die Erholung, die Bereitstellung neuer Betriebssubstanz, und daher auch der Tetanus.

6. Schließlich führen die Erholungsstörungen durch Alkohol nicht nur zur Förderung der Einzelzuckung und zum Versagen bei tetanischer Reizung, sondern auch zu der Neigung zur Kontraktur und zur Lähmung (= vegetative Narkose).

Aus dem Chemischen Laboratorium der Technischen Hochschule in Timişoara und der Zoologischen Station zu Agigea (Rumänien).

Untersuchungen über die Permeabilität lebender Membranen. VII.

Wirkung der Adsorptionserscheinungen auf die Penetration des Cetylchinoleiniumchlorids durch das Kiemenepithelium von „Atherina hepsetus L."[1]

Von

Eugen Macovski und **Eufrosine Macovski.**

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. Dezember 1938.)

Aus mehreren in letzter Zeit von E. Annau, R. Brinkmann, D. Broun, A. Froelich, E. und H. Gellhorn, L. Grimard-Richard, J. Herzog, L. Kofler, L. Laszt, J. Lopez-Lomba, L. Nattan-Larrier, A. Rao, A. v. Szent-Györgyi, M. Tiffeneau, C. Torres, J. Traube, W. Schmelzer, E. Zack u. a. veröffentlichten Arbeiten[2] geht hervor, daß die tensioaktiven Verbindungen im allgemeinen einen fördernden Einfluß auf die Penetration gelöster Stoffe durch Membranen in vitro sowie in vivo ausüben. Man hat z. B. gezeigt, daß verschiedene Arzneimittel in die Organismen rascher eindringen, wenn ihnen geringe Mengen Saponin zugesetzt werden (L. Kofler, 1922); daß Salze der Gallensäuren die Penetration gewisser Gifte durch das Kiemenepithelium der Fische beschleunigen (J. Lopez-Lomba, 1922; M. Tiffeneau und C. Torres, 1924); daß beim Zusatz von Salzen der Gallensäuren verschiedene Verbindungen Placente leichter durchdringen (L. Nattan-Larrier und L. Grimard-Richard, 1933); daß Kollodiummembranen in Gegenwart von oberflächenaktiven Verbindungen für Hämoglobin permeabel werden (R. Brinkmann und A. v. Szent-Györgyi, 1923); daß einige Stoffe beim Zusatz von Alkohol oder Saponin verschiedene künstliche und natürliche Membranen mit größerer Geschwindigkeit durchdringen (A. Rao, 1933) usw. — Diese experimentellen Ergebnisse bildeten die Grundlage zu der Anschauung, daß die kapillaraktiven Verbindungen die Permeabilität der Membranen für gelöste Stoffe erhöhen und daß zwischen der, in dieser Weise bewirkten Permeabilitätsänderung und der,

---

[1] VI. Mitteilung, Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 281 (1938). — [2] Vgl. z. B. Kopaczewski, W.: Traité de Biocolloidologie, Paris 1934, Bd. IV, 388—389; Gellhorn, E., u. J. Régnier: La Perméabilité en Physiologie et en Pathologie générale, Paris 1936, 61—62.

von den obigen Verbindungen bedingten Verminderung der Oberflächenspannung an der Grenze Lösung-Membran, ein gewisser Zusammenhang besteht.

Wenn kapillaraktive Verbindungen die Permeabilität von Membranen für gelöste Stoffe erhöhen, so müssen sie auch ihre eigene Penetration durch Membranen fördern. Unsere an „Atherina hepsetus L." ausgeführten Untersuchungen erlaubten diese Folgerung in einer indirekten Weise auf ihre Richtigkeit zu prüfen[3]. Wir konnten nämlich feststellen, daß bei Fischen in Lösungen stark kapillaraktiver Gifte, wie Cetylchinoleiniumchlorid oder Saponin, die Vergiftungssymptome (Atemfrequenzverminderung) mit steigender Giftkonzentration bedeutend früher auftreten als es unsere Vergiftungsgleichung (1):

$$(c - c_0)\,\tau = k \tag{1}$$

fordert. Dies bedeutet, daß mit steigender Konzentration die Penetration der genannten Gifte durch das lebende Kiemenepithelium wesentlich schneller erfolgt, als es nach dem Fickschen Diffusionsgesetz zu erwarten wäre. Da diese Gifte die Oberflächenspannung der Lösung um so mehr vermindern je höher ihre Konzentration ist, so konnten wir das zu rasche Auftreten der Vergiftungssymptome, bzw. die zu schnelle Giftpenetration durch die Kiemen auf die Wirkung der verminderten Oberflächenspannung zurückführen und in dieser Weise die gemachten Beobachtungen mit den eben erwähnten Anschauungen über die Beeinflussung der Membranpermeabilität in Einklang bringen.

Die Abweichungen von der Vergiftungsgleichung erlauben somit die beschleunigende Wirkung kapillaraktiver Stoffe auf ihre eigene Penetration durch lebende Membranen qualitativ festzustellen. Nun erhebt sich die Frage nach der Möglichkeit, diese Abweichungen quantitativ auszuwerten. Es handelt sich nämlich um das Aufstellen einer neuen Vergiftungsgleichung, welche die quantitative Beziehung zwischen der Konzentration der oberflächenaktiven Gifte und der Vergiftungszeit (und zwar für die „antekritischen Vergiftungssymptome!") darstellt.

Zu diesem Zweck nehmen wir die graphische Darstellung der Versuchsergebnisse, welche bei der Einwirkung von cetylchinoleiniumchlorid- und von saponinhaltigen Lösungen auf „Atherina hepsetus L." erhalten wurden[3] (vgl. Abb. 1, schematisiert). Kurve I stellt die beobachtete Änderung der Vergiftungszeit τ in Abhängigkeit von der Giftkonzentration c der Lösung dar. Kurve II zeigt den Verlauf der Vergiftung im Falle wenn das Gift die Kiemen nach dem Diffusionsgesetz von Fick durchdrungen hätte, d. h. wenn die Oberflächenspannung an der Grenze Lösung — Kiemen für alle Giftkonzentrationen denselben Wert wie bei der „maximalen ungiftigen Konzentration" c_0 beibehalten würde. (Aus diesem Grunde

[3] I. Mitteilung: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 309 (1937) und III. Mitteilung: Ebenda **188**, 405 (1938).

kann Kurve II als „Isotense" bezeichnet werden.) Bei einer beliebigen Konzentration $c_x > c_0$ tritt das, zur Bestimmung der Vergiftungszeit benützte Symptom nach der Zeit τ_x auf. Die Vergiftung erfolgt somit schon bei einer niedrigeren Konzentration c_x, als jener c'_x, welche nach Gleichung (1) der Vergiftungszeit τ_x entspricht. Daraus folgt, daß bei Verwendung von kapillaraktiven Giften die Vergiftungen in der Weise erfolgen, als ob die Versuche in Lösungen höherer Konzentrationen als den tatsächlichen ausgeführt wären.

Diese Folgerung erhält eine physikalische Begründung, wenn man in Betracht zieht, daß die gelösten tensioaktiven Stoffe die Eigenschaft haben sich an den Grenzflächen der Lösung mit anderen Phasen anzureichern (J. W. Gibbs, J. J. Thomson). Wie bekannt, handelt es sich um Adsorptionserscheinungen, welche nach der sogenannten „Adsorptionsisotherme" erfolgen. Es ist somit zu erwarten, daß sich auch im Falle unserer, mit kapillaraktiven Giften ausgeführten Versuche ähnliche Adsorptionsvorgänge äußern. Deshalb können wir annehmen, daß die tensioaktiven Gifte in der Nähe der Grenzfläche Lösung-lebendes Kiemenepithelium infolge der Adsorption in einer höheren Konzentration (Grenzphasekonzentration r) als in der übrigen Lösung (Volumphasekonzentration c) vorhanden sind und daß die Beziehung (2):

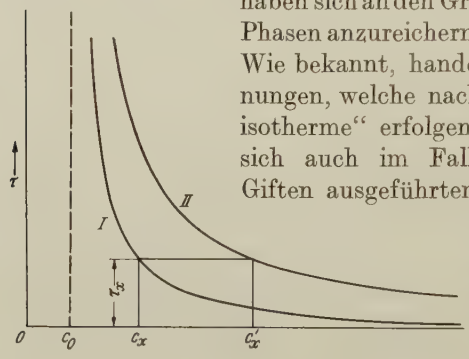


Abb. 1.

$$r = f(c), \tag{2}$$

welche zwischen diesen beiden Phasenkonzentrationen besteht, nichts anderes als eine Adsorptionsisotherme ist. Denn, wenn nach H. Freundlich die Adsorptionsisotherme (2) für Grenzphasen flüssig-fest, flüssig-flüssig und flüssig-gasförmig gilt[4], so ist ihre Gültigkeit auch im Falle der Phasenfläche Lösung-lebende Membran kaum zu bezweifeln.

Durch diese Überlegung ist es verständlich, warum wir bei der Verwendung von tensioaktiven Giften Abweichungen von der Vergiftungsgleichung (1) beobachtet haben. Wir haben nämlich das Auftreten der Vergiftungssymptome in Abhängigkeit von der Volumphasekonzentration c des Giftes verfolgt. Nach den obigen Betrachtungen ist aber die Oberfläche der Kiemen nicht von der Volumphasekonzentration c, sondern von der stärkeren Grenzphasekonzentration r des Giftes umhüllt, so daß der Gang der Giftpenetration durch die Kiemen und dementsprechend das Auftreten der Vergiftungssymptome in erster Linie von der Giftkonzen-

[4] Vgl. z. B. Zsigmondy, R.: Kolloidchemie. Leipzig, 1920. S. 89—90.

tration an der Grenzphase Lösung-Kiemen abhängt. Wollen wir also die Anwendbarkeit des Fickschen Diffusionsgesetzes auf die Penetration kapillaraktiver Gifte durch lebende Membranen prüfen, dann müssen wir das Auftreten der Vergiftungssymptome (d. h. die Änderung der Vergiftungszeit) in Abhängigkeit von der Grenzphasekonzentration r des Giftes untersuchen. Gilt dabei das obige Diffusionsgesetz, so muß sich für τ und r dieselbe Beziehung ergeben wie jene, welche im Falle der kapillarinaktiven Gifte zwischen τ und c besteht. Es handelt sich also um die Beziehung (3):

$$(r - r_0)\,\tau = k_r \qquad (3)$$

wo r_0 die „maximale ungiftige Grenzphasekonzentration" des Giftes bedeutet und k_r eine Konstante darstellt.

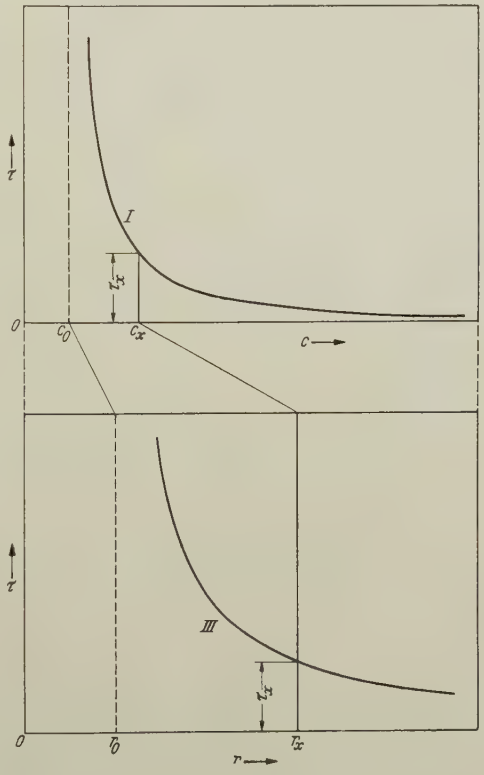


Abb. 2.

Einer direkten Prüfung der Gleichung (3) auf ihre Richtigkeit stehen Schwierigkeiten entgegen, weil wir die Giftkonzentration r an der Grenze Lösung-Kiemenoberfläche nicht kennen. In jeder für die Versuche verwendeten Lösung ist uns nur die Volumphasekonzentration c des tensioaktiven Giftes bekannt. Wir können aber doch zum Ziele gelangen, wenn wir in der eben erwähnten $\tau - r$-Beziehung (3) die r-Werte, unter Berücksichtigung der Formel (2), durch die entsprechenden c-Werte ersetzen und die so erhaltene Vergiftungsgleichung (4):

$$[f(c) - f(c_0)]\,\tau = k_r \qquad (4)$$

auf ihre Richtigkeit prüfen.

Die erwähnten Verhältnisse treten aus der schematischen Abb. 2 besonders deutlich hervor. Oben ist die Änderung der Vergiftungszeit τ in Abhängigkeit von der Volumphasekonzentration c des tensioaktiven Giftes durch Kurve I wiedergegeben. Diese Kurve wird auf rein empirischem Wege erhalten, indem man die Vergiftungszeiten τ für mehrere Lösungen von verschiedenen Giftkonzentrationen c ermittelt und durch

die entsprechenden Punkte eine kontinuierliche Linie zieht. Der untere Teil der Abb. 2 zeigt die theoretisch gefolgerte Änderung der Vergiftungszeit τ in Abhängigkeit von der Grenzphasekonzentration r des Giftes. Hier handelt es sich um die Funktion (3), d. h. um eine gleichseitige Hyperbel (Kurve III) deren Asymptoten einerseits die r-Achse, andererseits eine mit der τ-Achse parallel verlaufende und die r-Achse im Punkte r_0 schneidende Gerade bilden. Die Beziehung, welche zwischen den Kurven I und III besteht, ergibt sich daraus, daß nach unserer Theorie, das Adsorptionsgesetz alle c_x und r_x Konzentrationspaare, denen dieselbe Vergiftungszeit τ_x entspricht, untereinander enge verknüpft. Erfolgt also die Giftpenetration durch das Kiemenepithelium aus der, die Kiemenoberfläche umhüllenden Grenzschicht der Lösung nach dem Fickschen Diffusionsgesetz und sind unsere Betrachtungen richtig, so muß die analytische Gleichung (4), welche aus der Vergiftungsgleichung (3) an Hand der Adsorptionsisotherme (2) abgeleitet wurde, den Verlauf der empirisch festgestellten Kurve I wiedergeben.

Um die Anwendbarkeit dieser theoretischen Voraussetzungen auf die experimentellen Ergebnisse zu prüfen, muß zunächst in Gleichung (4) die allgemeine Form der Adsorptionsisotherme (2) durch ihre explizite Form ersetzt werden. Da aber für die Funktion (2) im Laufe der Zeit mehrere Formeln vorgeschlagen wurden, wollen wir in vorliegender Arbeit nur die zwei bekanntesten Formeln und zwar die Adsorptionsisotherme von Langmuir und jene von Ostwald-Freundlich verwenden.

Wie bekannt, hat I. Langmuir seine Adsorptionsisotherme (5):

$$r = \frac{c}{\alpha + \beta c} \tag{5}$$

aus kinetischen Überlegungen gefolgert; c und r stellen die Konzentration des tensioaktiven Stoffes in der Volum- bzw. in der Grenzphase der Lösung dar, während α und β Konstanten bedeuten[5]. Führen wir diese Langmuirsche Adsorptionsisotherme (5) in unsere Formel (4) ein, so entsteht die Vergiftungsgleichung (6):

$$\left(\frac{c}{\alpha + \beta c} - \frac{c_0}{\alpha + \beta c_0}\right) \tau = k_r \tag{6}$$

[5] Die Langmuirsche Adsorptionsisotherme lautet eigentlich wie folgt:

$$a = \frac{c}{k + 2\beta c}$$

wo c und a die Konzentration des tensioaktiven Stoffes in der Volumphase bzw. in der Phasengrenzfläche der Lösung bedeuten. (Vgl. z. B.: Eggert, J.: Lehrbuch der Physikalischen Chemie, Leipzig 1929, S. 242.) Um weitere Berechnungen zu vereinfachen und um Verwechslungen mit unserer in früheren Arbeiten gebrauchten Schreibweise zu vermeiden, haben wir in der genannten Adsorptionsisotherme statt k die Bezeichnung α und statt 2β einfach β gebraucht.

mit vier Konstanten: α, β, c_0 und k_r. Die Werte dieser Konstanten könnte man prinzipiell an Hand der, bei vier verschiedenen Giftkonzentrationen c bestimmten Vergiftungszeiten τ ermitteln. Da aber eine solche Berechnung ziemlich umständlich wäre, schlagen wir einen Umweg ein und schreiben Gleichung (6) zuerst folgendermaßen auf:

$$[c(\alpha + \beta c_0) - c_0(\alpha + \beta c)]\tau = k_r(\alpha + \beta c)(\alpha + \beta c_0),$$

$$\alpha(c - c_0)\tau = k_r\alpha^2 + k_r\alpha\beta c + k_r\alpha\beta c_0 + k_r\beta^2 c c_0,$$

$$(c - c_0)\tau - k_r\beta c - k_r\beta c_0 = k_r\alpha + k_r\frac{\beta^2}{\alpha}c c_0 \qquad (7)$$

um dann zu jeder Seite der Formel (7) die konstante Größe $2\,k_r\beta\,c_0$ zu addieren und zu Gleichung (8):

$$(c - c_0)(\tau - k_r\beta) = k_r\alpha + 2\,k_r\beta c_0 + k_r\frac{\beta^2}{\alpha}c c_0 \qquad (8)$$

zu gelangen. In dieser Gleichung (8) bestehen die ersten zwei Glieder der rechten Seite aus konstanten Größen; ihre Summe kann auch mit einer einzigen Konstante K (9):

$$k_r\alpha + 2\,k_r\beta c_0 = K \qquad (9)$$

bezeichnet werden. — Wenn das letzte Glied (10):

$$k_r\frac{\beta^2}{\alpha}c c_0 \qquad (10)$$

der Gleichung (8) im Vergleich zu K genügend klein ist, so kann es neben K vernachlässigt werden. In diesem Falle, d. h. wenn die Bedingung (11):

$$k_r\frac{\beta^2}{\alpha}c c_0 \ll K \qquad (11)$$

erfüllt ist, nimmt Gleichung (8) die Form (12):

$$(c - c_0)(\tau + m) = K \qquad (12)$$

an, indem man die Bezeichnung (13):

$$k_r\beta = -m \qquad (13)$$

einführt. Diese neue Vergiftungsgleichung (12) enthält drei Konstanten: c_0, m und K, die verhältnismäßig leicht ermittelt werden können. Man braucht nur die Vergiftungszeiten τ_1, τ_2 und τ_3 für mindestens drei verschiedene Konzentrationen c_1, c_2 und c_3 des tensioaktiven Giftes zu bestimmen und das System (14):

$$\left.\begin{aligned}(c_1 - c_0)(\tau_1 + m) &= K\\ (c_2 - c_0)(\tau_2 + m) &= K\\ (c_3 - c_0)(\tau_3 + m) &= K\end{aligned}\right\} \qquad (14)$$

von drei Gleichungen mit drei Unbekannten aufzulösen. Für c_0 und m ergeben sich die Beziehungen (15) bzw. (16):

$$c_0 = \frac{c_1 c_3 (\tau_3 - \tau_1) - c_1 c_2 (\tau_2 - \tau_1) - c_2 c_3 (\tau_3 - \tau_2)}{c_1 (\tau_3 - \tau_2) - c_2 (\tau_3 - \tau_1) + c_3 (\tau_2 - \tau_1)}, \tag{15}$$

$$m = \frac{\tau_1 \tau_2 (c_1 - c_2) + \tau_2 \tau_3 (c_2 - c_3) - \tau_1 \tau_3 (c_1 - c_3)}{c_1 (\tau_3 - \tau_2) - c_2 (\tau_3 - \tau_1) + c_3 (\tau_2 - \tau_1)}. \tag{16}$$

Durch Einführen der gefundenen c_0- und m-Werte in das System (14) kann auch K berechnet werden.

Bevor wir zur Prüfung der Anwendbarkeit der Vergiftungsgleichung (12) auf die Ergebnisse der Vergiftungsversuche übergehen, wollen wir diese Gleichung mit der für tensioinaktive Gifte gültigen Vergiftungsgleichung (17):

$$(c - c_0)\, \tau = \text{Const.} \tag{17}$$

[siehe Gleichung (1)!] vergleichen. Wird nämlich Gleichung (12) in Form (18):

$$(c - c_0)\, \tau = K - m\,(c - c_0) \tag{18}$$

aufgeschrieben, so läßt sich bei dem Vergleich der Formeln (17) und (18) leicht erkennen, daß die rechte Seite der Vergiftungsgleichung (17) bei allen Konzentrationen des kapillarinaktiven Giftes konstant ist, während in Formel (18) sie von der Konzentration des tensioaktiven Giftes abhängt: wenn c gleich c_0 ist, hat sie den Wert K; bei steigenden Giftkonzentrationen wird aber ihr Wert immer kleiner. Bezeichnen wir die rechte Seite der Gleichung (18) mit y

$$y = K - m\,(c - c_0) = -mc + (K + mc_0), \tag{19}$$

so ergibt sich, daß die Änderung der Funktion $y = f(c)$ mit steigender Giftkonzentration c linear verläuft, so daß hier der Konstante m die Bedeutung eines „Neigungskoeffizienten" zukommt. Man kann also annehmen, daß bei der Verwendung von tensioaktiven Giften die rechte Seite der Vergiftungsgleichung (1) bzw. (17) statt konstant zu bleiben (wie dies bei den oberflächeninaktiven Giften der Fall ist) infolge der Oberflächenaktivität der Gifte mit steigender Giftkonzentration linear abnimmt. Diese lineare Abhängigkeit (19) kann aber nicht für beliebige Konzentrationsgebiete gelten, da sie unter Umständen zu falschen Folgerungen führt. So wird z. B. für die Konzentration c gleich c_n (20):

$$c_n = \frac{K}{m} + c_0 \tag{20}$$

der rechte Teil der Formel (18) und somit auch die entsprechende Vergiftungszeit τ_n gleich Null, während bei höheren Konzentrationen: $c > c_n$ die Vergiftungszeiten „negative" Werte annehmen. Dies ist aus der gra-

phischen Darstellung der Funktion (12) (Abb. 3) ersichtlich, wo die gleichseitige Hyperbel H die Abszissenachse im Punkte c_n schneidet und bei höheren Konzentrationen unter der c-Achse verläuft. Ein solcher Verlauf der Kurve H kann natürlich der Wirklichkeit nicht entsprechen, woraus folgt, daß in der Nähe der Konzentration c_n (20) und bei höheren Giftkonzentrationen die Vergiftungsgleichung (12) ungültig wird. Dies hängt offenbar davon ab, daß bei der Ableitung der Formel (12) aus der Vergiftungsgleichung (6) das Glied (10) vernachlässigt wurde. Die Aufgabe dieses Gliedes wäre eben den rechten Teil der $\tau - c$-Kurve im Sinne der Pfeile (Abb. 3) derart nach oben zu verschieben, daß die $\tau - c$-Kurve stets oberhalb der c-Achse zu verlaufen kommt und zwar so, daß diese Achse zur Asymptote wird. — Nur im Bereiche genügend schwacher Giftkonzentrationen wo die Bedingung (11) erfüllt ist, trifft die Annahme über die lineare Änderung des rechten Teiles der Vergiftungsgleichung (17) bzw. (1) in Abhängigkeit von der Konzentration des tensioaktiven Giftes zu und nur in diesem Konzentrationsgebiete kann die Vergiftungsgleichung (12) statt (6) Verwendung finden. Beim Ausführen der Vergiftungsversuche mit tensioaktiven Giften kann man aber nicht im voraus wissen, ob im Konzentrationsbereich der Versuche die Bedingung (11) erfüllt ist. Deshalb ist der einzige Weg, die Anwendbarkeit der Gleichung (12) auf die Ergebnisse der Vergiftungsversuche direkt zu prüfen; stimmen sie nämlich überein, dann liegen die Versuchskonzentrationen im Gültigkeitsbereich der Gleichung (12); stimmen sie nicht überein, so muß man die Versuche, wenn möglich, bei schwächeren Konzentrationen ausführen.

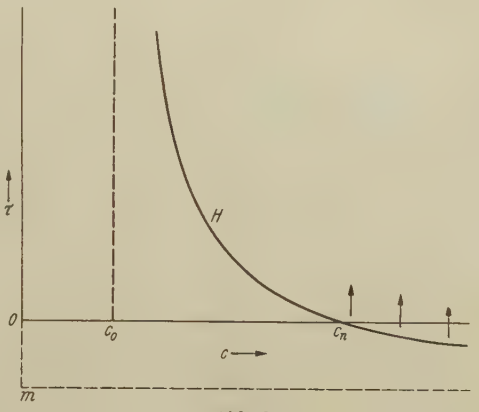


Abb. 3.

Nach diesen Überlegungen können wir zur Prüfung der Anwendbarkeit der Vergiftungsgleichung (12) auf die Ergebnisse unserer mit Cetylchinoleiniumchlorid an „Atherina hepsetus L." ausgeführten und in der I. Mitteilung veröffentlichten Versuche[3] schreiten. Zu diesem Zweck seien zunächst mit Hilfe der Formeln (15) und (16) und an Hand der Ergebnisse von je drei Versuchsreihen (Tabelle 1) die Werte der Konstanten c_0 und m berechnet. Dabei sollen aus den eben erwähnten Gründen die Ergebnisse der ersten Versuchsreihe unberücksichtigt bleiben; diese Versuchsreihe wurde nämlich, im Vergleich zu den übrigen, bei der höchsten Giftkonzentration ausgeführt, so daß die Wahrscheinlichkeit, sich im Gebiete zu befinden,

Tabelle 1[6].

c = molekulare Konzentration des Giftes; τ = zum Auftreten der Atemfrequenzverminderung nötige Zeit in Minuten.

Versuchsreihe	$c \cdot 10^7$	τ
1	1026	1
2	513	2
3	385	3,5
4	257	6
5	205	8
6	154	14
7	103	26
8	77	35
9	51	65

wo die Bedingungen für die Anwendbarkeit der Gleichung (12) nicht mehr erfüllt sind, am größten ist. Die erhaltenen Zahlen und ihre Mittelwerte sind in Tabelle 2 eingetragen. Setzt man die gefundenen c_0- und m-Mittelwerte in Gleichung (12) ein, so gestatten sie für jede Versuchsreihe den entsprechenden K-Wert zu ermitteln, woraus dann der K-Mittelwert bestimmt werden kann (Tabelle 3).

Tabelle 2.

Versuchsreihen	$c_0 \cdot 10^7$	m	Versuchsreihen	$c_0 \cdot 10^7$	m
2—3—4	— 127,0	4,00	3—5—8	35,6	0,74
2—3—5	— 66,8	3,29	3—5—9	7,9	0,96
2—3—6	29,3	2,17	3—6—7	35,5	1,89
2—3—7	32,4	2,13	3—6—8	15,4	2,80
2—3—8	20,6	2,27	3—6—9	17,2	2,72
2—3—9	19,6	2,28	3—7—8	— 15,3	5,93
2—4—5	— 5,7	2,11	3—7—9	11,2	3,82
2—4—6	63,6	1,02	3—8—9	18,5	2,48
2—4—7	46,9	1,28	4—5—6	104,0	— 2,11
2—4—8	30,2	1,54	4—5—7	60,1	— 0,43
2—4—9	24,3	1,64	4—5—8	36,8	0,47
2—5—6	82,8	— 0,38	4—5—9	27,1	0,84
2—5—7	52,1	0,98	4—6—7	27,1	3,84
2—5—8	32,6	1,36	4—6—8	5,3	5,55
2—5—9	25,3	1,50	4—6—9	12,7	4,98
2—6—7	35,1	1,98	4—7—8	— 31,1 ●	11,41 *
2—6—8	16,1	2,61	4—7—9	7,9	6,36
2—6—9	17,6	2,56	4—8—9	17,6	3,58
2—7—8	— 11,7	4,72	5—6—7	1,0 ●	10,00 *
2—7—9	11,9	3,33	5—6—8	20,1 ●	12,48 *
2—8—9	18,6	2,42	5—6—9	3,0	9,76
3—4—5	19,3	1,14	5—7—8	— 56,1 ●	20,08 *
3—4—6	76,3	0,03	5—7—9	3,6	9,54
3—4—7	53,1	0,49	5—8—9	16,6	4,75
3—4—8	35,6	0,87	6—7—8	— 86,4 ●	30,57 *
3—4—9	26,6	1,00	6—7—9	3,9	9,31
3—5—6	91,6	— 0,67	6—8—9	19,1	1,79
3—5—7	56,5	0,21	7—8—9	28,7	— 9,29

Mittelwerte: $c_0 = 0{,}000\,002\,4$; $m = 2{,}3$.

* Diese (fünf) von den anderen Werten zu stark abweichenden m-Werte wurden zur Berechnung des Mittelwertes nicht herangezogen. Die entsprechenden, d. h. auf Grund von denselben Versuchsreihen erhaltenen c_0-Werte (mit ● bezeichnet), wurden bei der Berechnung des c_0-Mittelwertes auch außer Acht gelassen, obwohl sie sich ziemlich gut den übrigen c_0-Werten anpassen.

[6] Vgl. Tabelle 3 in der I. Mitteilung: Naunyn-Schmiedebergs Arch **185**, 317 (1937).

Die erhaltenen Mittelwerte von c_0, m und K erlauben für jede beliebige Cetylchinoleiniumchloridkonzentration die Vergiftungszeit τ mit Hilfe der Formel (21):

$$\tau = \frac{K}{c - c_0} - m \qquad (21)$$

[eine andere Form der Vergiftungsgleichung (12)] zu berechnen. Wie aus Tabelle 4 und Abb. 4 ersichtlich ist, stimmen für die verwendeten Giftkonzentrationen die berechneten τ-Werte mit den experimentell gefundenen ziemlich gut überein. Dies bedeutet, daß die Vergiftungsgleichung (12) mit den erwähnten Versuchsergebnissen im Einklang steht und daß die verwendeten Giftkonzentrationen, außer jener der Versuchsreihe 1, im Gebiete liegen, wo die Bedingung (11) erfüllt ist. Der negative Wert im Falle der ersten Versuchsreihe erklärt sich dadurch, daß die Berechnung für c_n (20) den Wert $880 \cdot 10^{-7}$ Mol/Liter ergibt. Dies besagt, daß die Vergiftungsgleichung (12) nur im Gebiete schwächerer Cetylchinoleinium-

Tabelle 3.

Versuchsreihen	$c_0 = 24 \cdot 10^{-7}$; $m = 2{,}3$
	$K \cdot 10^7$
2	2103
3	2094
4	1934
5	1864
6	2119
7	2236
8	1977
9	1817

Mittelwert: 0,000 201 8

Tabelle 4.

Versuchsreihe	$c_0 = 24 \cdot 10^{-7}$; $m = 2{,}3$; $K = 2018 \cdot 10^{-7}$		
	$c \cdot 10^7$	τ (gefunden)	τ [nach (21) berechnet]
1	1026	1	− 0,3
2	513	2	1,8
3	385	3,5	3,3
4	257	6	6,4
5	205	8	8,8
6	154	14	13,2
7	103	26	23.2
8	77	35	35,8
9	51	65	72,4

Graphische Darstellung: Abb. 4.

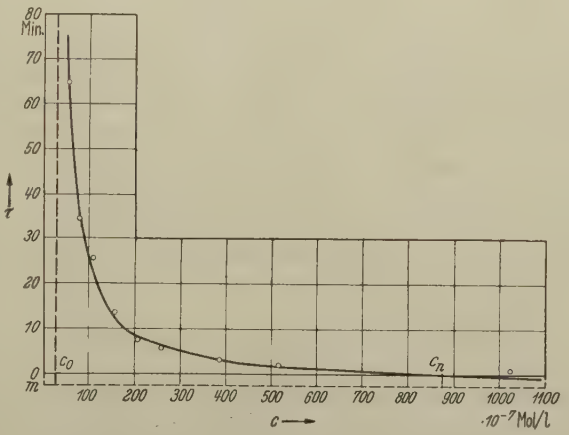


Abb. 4.

chloridkonzentrationen: $c < 880 \cdot 10^{-7}$ Mol/l gilt. Die Konzentration bei der ersten Versuchsreihe ($1026 \cdot 10^{-7}$ Mol/l) überschreitet aber diejenige von c_n bedeutend, so daß die Berechnung der entsprechenden Vergiftungszeit nach Formel (21) natürlich zu einem negativen Werte führt.

In der ersten und dritten Mitteilung[3] haben wir berichtet, daß es möglich ist aus den Ergebnissen mehrerer, bei verschiedenen Konzentrationen c eines tensioaktiven Giftes ausgeführten Versuchen die Werte für die Konstanten c_0 und k jener Vergiftungsgleichung (1) abzuleiten, nach welcher die Symptome auftreten würden, wenn die Verminderung der Oberflächenspannung keinen verändernden Einfluß auf den Penetrationsvorgang ausüben würde, d. h. wenn die Oberflächenspannung an der Grenze Lösung -- Kiemen bei allen Giftkonzentrationen denselben Wert wie bei der „maximalen ungiftigen Konzentration" c_0 beibehalten hätte. Einer konstanten, von der Giftkonzentration der Lösung unabhängigen Oberflächenspannung würde nun eine ganz bestimmte Giftverteilung zwischen der Volum- und Grenzphase der Lösung entsprechen. Die dabei herrschenden Beziehungen können wir mit Hilfe der von J. W. Gibbs aus thermodynamischen Überlegungen für verdünnte Lösungen hergeleiteten Formel (22)

$$a = -\frac{c}{RT} \cdot \frac{\partial \sigma}{\partial c} \tag{22}$$

feststellen[7]. In dieser Formel bedeutet a die Anzahl der Mole, welche in der Oberflächeneinheit (in unserem Falle: in der Grenzphase der Lösung) gegenüber der Volumphasekonzentration c der Lösung überwiegen oder fehlen, je nachdem die Verbindung die Oberflächenspannung der Lösung vermindert oder erhöht, während σ — die Oberflächenspannung der Lösung an der entsprechenden Phasengrenze, R — die Gaskonstante und T — die absolute Temperatur des Systems darstellen. Im Falle, wenn die Oberflächenspannung der Lösung mit der Konzentration der in Frage kommenden Verbindung sich nicht ändert, wenn also $\frac{\partial \sigma}{\partial c} = 0$, auch a gleich Null ist, d. h. daß die Konzentrationsdifferenz zwischen der Grenz- und Volumphase der Lösung keine Änderung erfährt. Wird aber die Oberflächenspannung mit steigender Konzentration vermindert: $\frac{\partial \sigma}{\partial c} < 0$, dann wird a positiv, was einer Anreicherung der gelösten Verbindung in der Grenzschicht der Lösung entspricht: die Verbindung wird positiv adsorbiert.

Stellen wir uns nun vor, daß wir Lösungen eines tensioaktiven Giftes verwenden und daß das Gift sich an der Kiemenoberfläche zwischen der

[7] Vgl. z. B. Bakker, G.: Kapillarität und Oberflächenspannung, im Handb. d. Experimentalphysik, von W. Wien u. F. Harms, Leipzig 1928, Bd. 6, S. 240 u. 298.

Volum- und Grenzphase der Lösung nach der Gibbsschen Gleichung (22) verteilt. Je höher die Giftkonzentration der Lösung ist, um so mehr wird die Oberflächenspannung an der Kiemenoberfläche vermindert und um so größer wird die Differenz der Giftkonzentration zwischen den beiden Phasen der Lösung. Im Punkte, wo die „maximale ungiftige Konzentration" c_0 erreicht ist, wird an den Kiemen die Oberflächenspannung der Lösung im Vergleich zu jener des reinen Lösungsmittels um einen gewissen Betrag vermindert; dieser verminderten Oberflächenspannung entsprechende Differenz zwischen der Giftkonzentration in der Grenzphase und in der Volumphase der Lösung sei hier mit Δ (23):

$$\Delta = r_0 - c_0 \tag{23}$$

bezeichnet. Bei einer weiteren Steigerung der Giftkonzentration wird die Oberflächenspannung an den Kiemen natürlich noch mehr vermindert; sie müßte aber konstant bleiben und den, der c_0-Konzentration entsprechenden Wert beibehalten im Falle, wenn die Bedingungen für die Anwendbarkeit der Vergiftungsgleichung (1) erfüllt wären. Dabei müßte auch die Konzentrationsdifferenz zwischen den beiden Phasen der Lösung bei allen, die c_0-Konzentration überschreitenden Giftkonzentrationen den gleichen Wert Δ behalten.

Befindet sich also ein Fisch in einer Lösung von der Volumphasekonzentration eines tensioaktiven Giftes $c_x > c_0$, dann besteht an den Kiemen eine kleinere Oberflächenspannung als jene, welche der Konzentration c_0 entspricht, während die Konzentrationsdifferenz $r_x - c_x$ größer als Δ ist (24).

$$r_x - c_x > \Delta. \tag{24}$$

Hätte aber die Oberflächenspannung bei allen Giftkonzentrationen denselben Wert wie bei c_0, dann müßte man den Fisch in die Lösung von der Volumphasekonzentration c_x' (25):

$$c_x' = r_x - \Delta \tag{25}$$

bringen, um an den Kiemen dieselbe Grenzphasekonzentration r_x wie früher zu erhalten. Die Formel (25) kann ganz allgemein als (26):

$$c' = r - \Delta \tag{26}$$

dargestellt werden. Aus Gleichungen (23) und (26) folgt nun die Beziehung (27)

$$r - r_0 = c' - c_0, \tag{27}$$

welche unter Berücksichtigung der Formel (3) zur Gleichung (28):

$$(c' - c_0)\,\tau = k_r \tag{28}$$

führt. Das ist eine Vergiftungsgleichung, welche der Bedingung der konstanten, von der Giftkonzentration unabhängigen Oberflächenspannung entspricht. Wir haben aber bereits erwähnt, daß die Werte der Konstanten

einer solchen Vergiftungsgleichung aus den Ergebnissen der Vergiftungsversuche direkt ableitbar sind. Es ist also möglich, mit Hilfe der Formel (28) jeder Volumphasekonzentration c entsprechende, hypothetische c'-Konzentration zu berechnen und zwar, wenn man den bei der Konzentration c gefundenen τ-Wert in Gleichung (29):

$$c' = \frac{k_r}{\tau} + c_0 \tag{29}$$

[eine andere Form der Vergiftungsgleichung (28)] einsetzt. Dabei sei erwähnt, daß im Lichte obiger Betrachtungen die Konstanten k und k_r gleichwertig sind (30):

$$k_r = k. \tag{30}$$

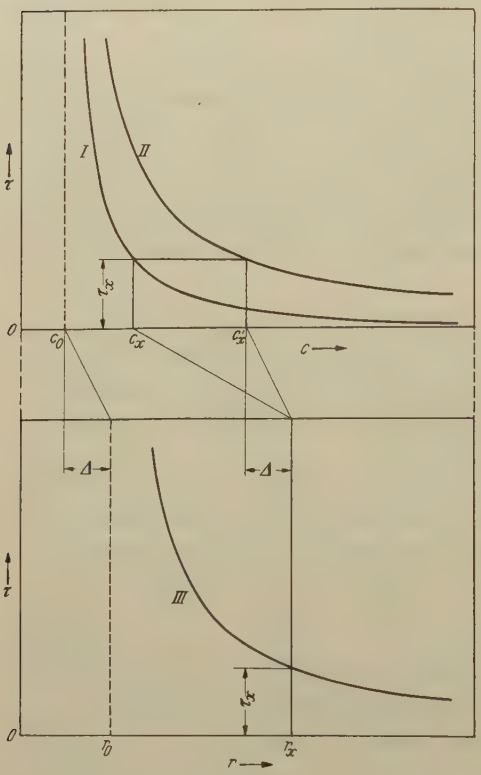


Abb. 5.

Aus Abb. 5, wo die experimentell ermittelte $\tau - c$-Abhängigkeit durch Kurve I wiedergegeben ist, treten die Beziehungen zwischen den Vergiftungsgleichungen (3) und (28) besonders deutlich hervor. Man sieht, daß die gleichseitige Hyperbel II, welche die Vergiftungsgleichung (28) darstellt, denselben Verlauf annimmt, wie die Hyperbel III, welche der Vergiftungsgleichung (3) entspricht, nur ist sie in bezug auf die Hyperbel III um den Betrag Δ längs der Konzentrationsachse in der Richtung niedrigerer Konzentrationen verschoben.

Setzen wir in die allgemeine Formulierung der Adsorptionsisotherme (2) die Beziehung (26) ein, so entsteht Gleichung (31):

$$r = f(c) = c' + \Delta, \tag{31}$$

welche die Abhängigkeit zwischen den c-, r- und c'-Konzentrationen ausdrückt. Die Verhältnisse werden besonders einfach, wenn die Konzentrationsdifferenz Δ genügend klein ist um im Vergleich zu c'-Konzentrationen vernachlässigt werden zu können. Dann nimmt die Beziehung (31) die Form (32):

$$r = f(c) = c' \tag{32}$$

an, welche zeigt, daß in diesem Falle die Giftkonzentrationen r den c'-Konzentrationen praktisch gleich werden.

Unter Berücksichtigung der Gibbsschen Formel (22) ist es also gelungen die zwischen den Konzentrationen c, r und c' bestehenden Beziehungen aufzuklären [Formeln (31) und (32)]. Dies ist deshalb von Bedeutung, weil diese Beziehungen die Berechnung der Konstanten in den Gleichungen der Adsorptionsisotherme gestatten und somit ermöglichen, die Anwendbarkeit der Vergiftungsgleichung von Typus (4) als solche auf die Ergebnisse der Vergiftungsversuche zu prüfen. Wie man dabei zu verfahren hat, sei hier wieder an Hand unserer mit Cetylchinoleiniumchlorid ausgeführten Vergiftungsversuche erörtert.

Es ist zunächst zu entscheiden, welche der beiden Beziehungen (31) oder (32) hier zu verwenden ist. Zu diesem Zweck können wir die Ergebnisse der stalagmometrischen Untersuchung[8] heranziehen. Diese Untersuchung zeigte, daß eine wässerige Lösung des Cetylchinoleiniumchlorids von der Konzentration $c = 51 \cdot 10^{-7}$ Mol/l an der Grenze Lösung -- Luft fast dieselbe Oberflächenspannung hat (72,0 Dynen/cm) wie Wasser (72,5 Dynen/cm). Bei der „maximalen ungiftigen Cetylchinoleiniumchloridkonzentration" $c_0 = 22 \cdot 10^{-7}$ Mol/l muß dieser Unterschied der Oberflächenspannung noch kleiner sein. Nehmen wir an, daß ähnliche Verhältnisse auch an der Phasegrenze Lösung -- Kiemen bestehen, d. h. daß in Lösungen, welche das Cetylchinoleiniumchlorid in der Konzentration $c_0 = 22 \cdot 10^{-7}$ Mol/l enthalten, die Oberflächenspannung an der Kiemenfläche fast denselben Wert wie in reinem Meerwasser hat, dann ist in der genannten Lösung die Grenzphasekonzentration r der Volumphasekonzentration c des Giftes praktisch gleich, so daß die Konzentrationsdifferenz Δ (23) annähernd den Wert Null hat. Bei diesen Versuchen kommt also die Beziehung (32) in Betracht, welche unter Verwendung der Adsorptionsisotherme von Langmuir (5) die Form (33)

$$r = c' = \frac{c}{\alpha + \beta c} \tag{33}$$

annimmt.

Um die Konstanten α und β in Beziehung (33) zu berechnen, müssen zuerst die c'-Konzentrationen, welche jeder für die Versuche verwendeten

Tabelle 5.

Versuchsreihe	$c_0 = 22 \cdot 10^{-7}$ Mol/l; $k = 2006 \cdot 10^{-7}$		
	$c \cdot 10^7$	τ	$r \cdot 10^7$
1	1026	1	2028
2	513	2	1025
3	385	3,5	595
4	257	6	396
5	205	8	273
6	154	14	165
7	103	26	99
8	77	35	79
9	51	65	53

[8] Vgl. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 320 (Tabelle 6) (1937).

c-Konzentration entsprechen, ermittelt werden. Dies gelingt mit Hilfe der Gleichung (29), wo man für die Konstanten c_0 und k die in unserer ersten Mitteilung gefundenen Werte: $c_0 = 22 \cdot 10^{-7}$ Mol/l und $k = 2006 \cdot 10^{-7}$ einsetzt (Tabelle 5). Dann lösen wir das System (34)

$$\left.\begin{aligned} r_1 &= \frac{c}{\alpha + \beta c_1} = c_1' \\ r_2 &= \frac{c_2}{\alpha + \beta c_2} = c_2' \end{aligned}\right\} \qquad (34)$$

von zwei Gleichungen mit zwei Unbekannten auf und erhalten für α und β die Beziehungen (35) und (36):

$$\alpha = \frac{c_1 c_2 (r_1 - r_2)}{r_1 \cdot r_2 (c_1 - c_2)} \quad (35); \qquad \beta = \frac{c_1 r_2 - c_2 r_1}{r_1 r_2 (c_1 - c_2)}. \qquad (36)$$

Daraus lassen sich an Hand der in Tabelle 5 vorhandenen Zahlen die Werte von α und β ermitteln (Tabelle 6).

Tabelle 6.

Versuchsreihen	α	β	Versuchsreihen	α	β
1—2	0,4950	+ 106	3—7	1,1841	— 13949
1—3	0,7318	— 2202	3—8	1,0566	— 10637
1—4	0,7941	— 2809	3—9	1,0103	— 9437
1—5	0,8121	— 2984	4—5	0,8653	— 5578
1—6	1,0088	— 4901	4—6	1,2494	— 20527
1—7	1,1000	— 5791	4—7	1,2534	— 20681
1—8	1,0127	— 4940	4—8	1,0828	— 14043
1—9	0,9861	— 4680	4—9	1,0218	— 11668
2—3	1,0879	— 11451	5—6	1,4842	— 35768
2—4	0,9442	— 8649	5—7	1,3327	— 28381
2—5	0,9176	— 8131	5—8	1,1093	— 17482
2—6	1,1190	— 12057	5—9	1,0323	— 13724
2—7	1,1760	— 13169	6—7	1,2566	— 20994
2—8	1,0584	— 10876	6—8	1,0160	— 5370
2—9	1,0132	— 9995	6—9	0,9766	— 2809
3—4	0,8722	— 5848	7—8	0,7800	+ 25276
3—5	0,8692	— 5770	7—9	0,8856	+ 15027
3—6	1,1242	— 12393	8—9	0,9379	+ 4777

Mittelwerte: $\alpha = 1{,}0183$; $\beta = -8681$.

Es stehen uns nun alle Werte zur Verfügung, welche nötig sind, um die Anwendbarkeit der Gleichung (6) auf unsere Cetylchinoleiniumchlorid-versuche zu prüfen. Zu diesem Zweck schreiben wir Gleichung (6) in Form (37):

$$\tau = \frac{k}{\frac{c}{\alpha + \beta c} - v_0} \qquad (37)$$

auf, wo v_0 das konstante Glied (38):

$$v_0 = \frac{c_0}{\alpha + \beta c_0} \qquad (38)$$

darstellt. Die Berechnung der Vergiftungszeit ergibt τ-Werte, welche mit den experimentell gefundenen Vergiftungszeiten ziemlich gut übereinstimmen (Tabelle 7, Abb. 6). Man kann also schließen, daß die Vergiftungsgleichung (6) bzw. (37) mit den obigen Versuchsergebnissen im Einklang steht[9].

Tabelle 7.

Versuchsreihe	$\alpha = 1{,}0183$; $\beta = -8681$; $k = 2006 \cdot 10^{-7}$; $v_0 = 22 \cdot 10^{-7}$		
	$c \cdot 10^7$	τ (gefunden)	τ (berechnet)
1	1026	1	0,25
2	513	2	2,30
3	385	3,5	3,71
4	257	6	6,66
5	205	8	9,04
6	154	14	13,2
7	103	26	22,5
8	77	35	34,0
9	51	65	66,9

Berechnung nach Formel (37). Graphische Darstellung: Abb. 6.

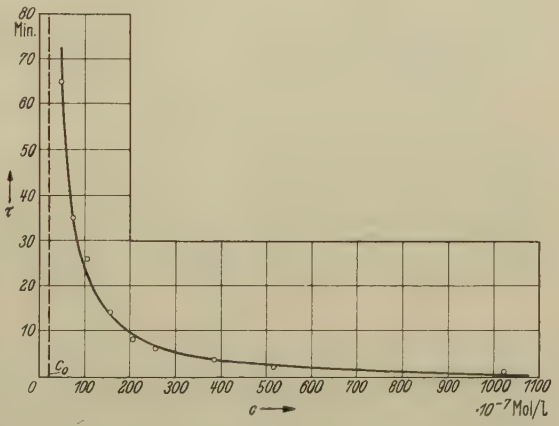


Abb. 6.

Nachdem wir uns über die Anwendbarkeit der Vergiftungsgleichung (6) auf unsere Cetylchinoleiniumversuche überzeugt haben, wollen wir zeigen, daß die Werte der Konstanten der Vergiftungsgleichung (12) sich aus jenen der Gleichung (6) ableiten lassen.

Setzen wir in Gleichung (13) $\beta = -8681$ und $k_r = 2006 \cdot 10^{-7}$, so ergibt sich für m der Wert 1,74. Dieser Wert stimmt mit jenem, welcher aus den experimentell ermittelten und nach Vergiftungsgleichung (1) berechneten τ-Werten erhalten wurde (1,79 Minuten) überein (vgl. Tabelle 8).

Auch der Wert von K (9) kann rechnerisch ermittelt werden, wenn wir in Gleichung (9) $\alpha = 1{,}0183$; $\beta = -8681$; $c_0 = 22 \cdot 10^{-7}$ und $k_r = 2006 \cdot 10^{-7}$ einführen. Man bekommt für $K = 1966 \cdot 10^{-7}$.

[9] Es sei hier bemerkt, daß unter Verwendung der Konstanten $\alpha = 1{,}0183$ und $\beta = -8681$ (Tabelle 6) die Beziehung (38) für v_0 den Wert $22 \cdot 10^{-7}$ ergibt, welcher mit dem c_0-Wert $22 \cdot 10^{-7}$, wie zu erwarten war, übereinstimmt.

Tabelle 8.

Versuchsreihe	$c \cdot 10^7$	τ (gefunden)	τ [nach (1) berechnet[10]]	τ (ber.) $-$ τ (gef.) $= m$
1	1026	1	2,0	1,0
2	513	2	4,1	2,1
3	385	3,5	5,5	2,0
4	257	6	8,5	2,5
5	205	8	11,0	3,0
6	154	14	15,2	1,2
7	103	26	24,8	$-$ 1,2
8	77	35	36,5	1,5
9	51	65	69,0	4,0
			Summe:	16,1

Mittelwert: $m = \frac{16{,}1}{9} = 1{,}79.$

Werden nun in ähnlicher Weise die Werte des Gliedes (10) für jede, für die Versuche verwendete Cetylchinoleiniumchloridkonzentration ermittelt, so ist es aus den erhaltenen Zahlen (Tabelle 9) leicht zu ersehen,

Tabelle 9.

Versuchsreihe	$c \cdot 10^7$	Der Wert des Gliedes (10) $\times 10^7$	$\frac{\text{Glied (10)}}{K} \cdot 100$; $K = 1966 \cdot 10^{-7}$
1	1026	33,5	1,70
2	513	16,8	0,85
3	385	12,6	0,64
4	257	8,4	0,43
5	205	6,7	0,34
6	154	5,0	0,26
7	103	3,4	0,17
8	77	2,5	0,13
9	51	1,7	0,09

daß dieses Glied im Vergleich zu K nur bei der stärksten Giftkonzentration (1. Versuchsreihe) einen ziemlich hohen Wert hat, während er bei den schwächeren Konzentrationen klein genug ist (kleiner als 1 %), um neben K vernachlässigt werden zu können. — In der Vergiftungsgleichung (12) wurde das Glied (10) nicht berücksichtigt, so daß es verständlich ist, warum an Hand dieser Gleichung ein wenig verschiedene Werte, und zwar: $m = 2{,}3$ statt 1,8; $c_0 = 24 \cdot 10^{-7}$ statt $22 \cdot 10^{-7}$ Mol/l und $k = 2018 \cdot 10^{-7}$ statt $1966 \cdot 10^{-7}$ erhalten wurden.

Man gelangt zu ähnlichen Resultaten, wenn man statt der theoretisch begründeten Adsorptionsisotherme von Langmuir, die, auf rein empirischem Wege erhaltene, sogenannte Freundlichsche Adsorptionsisotherme (39):

$$r = ac^b \qquad (39)$$

[10] Vgl. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 320 (Tabelle 7) (1937).

heranzieht. Die Konzentrationen des tensioaktiven Giftes in der Grenz- und in der Volumphase der Lösung sind mit r bzw. c, die Konstanten mit a und b bezeichnet[11]. Wird nun die Adsorptionsisotherme von Freundlich in Formel (4) eingeführt, so entsteht die Vergiftungsgleichung (40):

$$(ac^b - ac_0^b)\,\tau = k_r, \tag{40}$$

bzw. (41):

$$(c^b - c_0^b)\,\tau = \frac{k_r}{a} = g \tag{41}$$

Obwohl in Gleichung (41) nur drei Konstanten: c_0, b und g sind, können ihre Werte an Hand der experimentellen Daten mit Hilfe des Systems (42):

$$\left.\begin{aligned}(c_1^b - c_0^b)\,\tau_1 &= g\\ (c_2^b - c_0^b)\,\tau_2 &= g\\ (c_3^b - c_0^b)\,\tau_3 &= g\end{aligned}\right\} \tag{42}$$

nicht in einer einfachen Weise ermittelt werden, da der Auflösung der transzendenten Gleichungen, aus welchen das System (42) besteht, Schwierigkeiten entgegenstehen. Wir müssen deshalb darauf verzichten, die Vergiftungsgleichung (41) als solche auf die Übereinstimmung mit den Ergebnissen unserer mit Cetylchinoleiniumchlorid an „Atherina hepsetus L." ausgeführten Vergiftungsversuche zu prüfen.

Es ist jedoch möglich, in einer anderen Weise zum Ziele zu kommen, und zwar wenn wir annehmen, daß im Falle der genannten Vergiftungsversuche die Beziehung (32) gilt. Auf die Gründe, welche diese Annahme berechtigen, wurde bereits hingewiesen. Unter Verwendung der Freundlichschen Adsorptionsisotherme (39) nimmt die Beziehung (32) die Form (43):

$$r = c' = ac^b \tag{43}$$

an. Hier sind die c'- bzw. r-Konzentrationen als bekannt vorauszusetzen, da sie mit Hilfe der Formel (29) für jede beliebige Volumphasekonzentration c berechnet werden können. (Vgl. Tabelle 5.) Es genügt also das System (44):

$$\left.\begin{aligned}r_1 &= a\,c_1^b\\ r_2 &= a\,c_2^b\end{aligned}\right\} \tag{44}$$

---

[11] Die Adsorptionsisotherme von H. Freundlich wird gewöhnlich folgendermaßen geschrieben:

$$\frac{x}{m} = \alpha\, c^{\frac{1}{n}}$$

x/m stellt die Konzentration des adsorbierten Stoffes in der Oberfläche dar, während c die Volumphasekonzentration bedeutet. Die Konstanten α und $1/n$ haben wir in Formel (39) mit a bzw. b bezeichnet.

von zwei Gleichungen mit zwei Unbekannten aufzulösen, um für a und b die Beziehungen (45) bzw. (46):

$$\log a = \frac{\log c_1 \cdot \log r_2 - \log c_2 \cdot \log r_1}{\log c_1 - \log c_2} \tag{45}$$

$$b = \frac{\log r_1 - \log r_2}{\log c_1 - \log c_2} \tag{46}$$

zu erhalten. Das in Tabelle 5 vorhandene Zahlenmaterial gestattet dann, die Werte dieser Konstanten zu ermitteln. (Tabelle 10.)

Tabelle 10.

Versuchsreihen	log a	b	Versuchsreihen	log a	b
1—2	0,3428	0,984	3—7	$\bar{1}$,2581	1,360
1—3	$\bar{1}$,5398	1,251	3—8	$\bar{1}$,5309	1,254
1—4	$\bar{1}$,5232	1,257	3—9	$\bar{1}$,6816	1,196
1—5	$\bar{1}$,5575	1,245	4—5	$\bar{1}$,7187	1,174
1—6	$\bar{1}$,3238	1,323	4—6	$\bar{2}$,9326	1,502
1—7	$\bar{1}$,3517	1,313	4—7	$\bar{1}$,1778	1,399
1—8	$\bar{1}$,5335	1,253	4—8	$\bar{1}$,5407	1,249
1—9	$\bar{1}$,6510	1,214	4—9	$\bar{1}$,7131	1,177
2—3	$\bar{3}$,8732	1,894	5—6	$\bar{2}$,3685	1,761
2—4	$\bar{2}$,8651	1,530	5—7	$\bar{1}$,0294	1,473
2—5	$\bar{1}$,1020	1,442	5—8	$\bar{1}$,5086	1,266
2—6	$\bar{2}$,8972	1,518	5—9	$\bar{1}$,7122	1,178
2—7	$\bar{1}$,0655	1,456	6—7	$\bar{1}$,4390	1,269
2—8	$\bar{1}$,3480	1,351	6—8	$\bar{1}$,8927	1,063
2—9	$\bar{1}$,5331	1,283	6—9	$\bar{1}$,9694	1,028
3—4	$\bar{1}$,4909	1,271	7—8	0,4339	0,775
3—5	$\bar{1}$,5787	1,236	7—9	0,2064	0,889
3—6	1,1560	1,399	8—9	0,0704	0,969

Mittelwerte: $\log a = \bar{1},4421$; $a = 0,27675$; $b = 1,283$.

Sind die Konstanten a und b bekannt und setzen wir auch die c_0- und k-Werte als bekannt voraus ($c_0 = 22 \cdot 10^{-7}$ Mol/l; $k = 2006 \cdot 10^{-7}$), so können wir mit Hilfe der Formel (47):

$$\tau = \frac{k}{a\,c^b - w_0} \tag{47}$$

eine andere Form der Vergiftungsgleichung (40), wo w_0 gleich (48):

$$w_0 = a c_0^b \tag{48}$$

ist, zur Berechnung der τ-Werte für jede, bei den Versuchen verwendete Cetylchinoleiniumchloridkonzentration c schreiten (Tabelle 11). Beim Gegenüberstellen der erhaltenen Zahlen mit den experimentell gefundenen können wir schließen, daß die Vergiftungsgleichung (40) bzw. (47) sich auf

die Ergebnisse unserer Versuche anwenden läßt (vgl. Abb. 7). Nur der unter Verwendung der Konstanten $a = 0{,}27675$ und $b = 1{,}283$ für w_0 berechnete Wert: $15 \cdot 10^{-7}$ ist ein wenig zu niedrig; er müßte nämlich mit dem c_0-Wert: $22 \cdot 10^{-7}$ übereinstimmen.

Tabelle 11.

Versuchsreihe	$a = 0{,}27675$; $b = 1{,}283$; $k = 2006 \cdot 10^{-7}$; $w_0 = 15 \cdot 10^{-7}$		
	$c \cdot 10^7$	τ (gefunden)	τ (berechnet)
1	1026	1	1,00
2	513	2	2,46
3	385	3,5	3,58
4	257	6	6,13
5	205	8	8,32
6	154	14	12,4
7	103	26	22,0
8	77	35	34,6
9	51	65	71,6

Berechnung nach Formel (47). Graphische Darstellung: Abb. 7.

Es ist vielleicht nicht ohne Interesse, daß im Falle, wenn die Bedingung (49):

$$c_0^b \ll c^b \qquad (49)$$

erfüllt ist, d. h. wenn das Glied (48) neben ac^b vernachlässigt werden kann, unsere Gleichung (40) eine besonders einfache Form (50):

$$ac^b \tau = k_\tau \qquad (50)$$

bzw. (51):

$$c^b \tau = \text{Const.} \qquad (51)$$

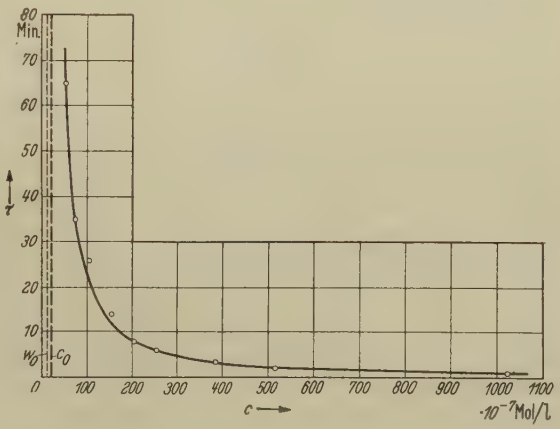


Abb. 7.

annimmt. Die letzte Formel (51) stellt die von Wo. Ostwald im Jahre 1907 aufgestellte Vergiftungsgleichung dar[12]. Wir gelangen somit zur Erkenntnis, daß die bekannte Ostwaldsche Vergiftungsgleichung als ein Sonderfall unserer allgemeinen Vergiftungsgleichung (40) zu betrachten ist.

In ähnlicher Weise kann man aus Formel (6) eine andere Vergiftungsgleichung ableiten, welche mit der eben erwähnten Ostwaldschen Vergiftungsgleichung (51) sozusagen äquivalent ist. Wenn nämlich in Glei-

[12] Ostwald, Wo.: Pflügers Arch. **120**, 19 (1907); vgl. R. Höber: Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. Leipzig-Berlin 1919, S. 227 u. ff.

chung (6) das Glied (38) neben $\frac{c}{\alpha + \beta c}$ vernachlässigt werden kann, was der Bedingung (52):

$$\frac{c_0}{\alpha + \beta c_0} \ll \frac{c}{\alpha + \beta c} \tag{52}$$

entspricht, so nimmt Formel (6) eine einfachere Form (53):

$$\frac{c\,\tau}{\alpha + \beta c} = k_r \tag{53}$$

an, die mit der Formel (54):

$$c\,(\tau + m) = \text{Const.}, \tag{54}$$

wo die Bezeichnung (13) berücksichtigt wurde, identisch ist. Beide Vergiftungsgleichungen (51) und (54) lassen sich also aus unserer Vergiftungsgleichung (4) in derselben Weise ableiten: unter Anwendung der Adsorptionsisotherme von Langmuir gelangt man zur Gleichung (54); wird statt dieser die Freundlichsche Adsorptionsisotherme verwendet, so erhält man die Vergiftungsgleichung (51), welche bereits von Wo. Ostwald aufgestellt wurde.

Zusammenfassung.

In vorliegender Arbeit wurden unter Verwendung der Adsorptionsisothermen von I. Langmuir und H. Freundlich neue, für tensioaktive Gifte und antekritische Vergiftungssymptome gültige Vergiftungsgleichungen aufgestellt. Wir konnten feststellen, daß diese Gleichungen sich mit den Ergebnissen unserer mit Cetylchinoleiniumchlorid an „Atherina hepsetus L." ausgeführten Vergiftungsversuchen gut in Einklang bringen lassen. Dabei hat sich ergeben, daß die schon länger bekannte Wo. Ostwaldsche Vergiftungsgleichung nur ein Sonderfall unserer allgemeineren Vergiftungsgleichung darstellt.

Aus der Med. Universitätsklinik Köln-Lindenburg.
(Leiter: Prof. Dr. Külbs)

Experimentelles über Hypoglykämie und hypoglykämischen Shock.

Von
Professor Dr. Cornelius Dienst.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. Dezember 1938.)

I.

Beziehungen zum Zuckerhaushalt.

Injiziert man Insulin, so entsteht eine „Hypoglykämie", die bekanntlich um so tiefer ausfällt, je größer die angewandte Insulindosis war. Gibt man massige Insulindosen, so pflegt ein „hypoglykämischer Schock" einzutreten. Der hypoglykämische Schock ist demnach, so schließt man gewöhnlich, die Folge einer besonders starken Blutzuckersenkung und nur graduell von der einfachen Hypoglykämie verschieden. Die je nach der Größe der Insulindosis in ihrer Schwere sich steigernden Erscheinungen des sogenannten „hypoglykämischen Symptomenkomplexes" schienen durchaus diese Annahme zu rechtfertigen.

Bei der Verschiedenartigkeit der beobachteten Symptome ergab sich aber doch die Notwendigkeit, den „Komplex" zu unterteilen. So unterschied man denn den kleinen, mittleren und großen „glykopenischen Anfall" (Sigwald). Den kleinen Anfall nannte man die Phase, in der bei einem Blutzucker von 80—65 mg% nur vegetative Veränderungen festzustellen waren: Hunger, Schwitzen, Kongestionen, Müdigkeit und Zittern. Psychische Veränderungen, wie Gereiztheit, Zwangslachen, Zwangsweinen, Benommenheit usw., sollten das Bild des mittleren glykopenischen Anfalls charakterisieren. Für den schweren Anfall dagegen — bei Blutzuckerwerten unter 50 mg% — galt das Überwiegen zentralnervöser Erscheinungen, wie Krämpfe, Atonie und Lähmungen vor den vegetativen und psychischen Symptomen als kennzeichnend. Man erkannte aber bald, daß die Tiefe der Blutzuckersenkung nicht immer mit der Schwere der hypoglykämischen Symptome parallel ging, besonders, nachdem man zum Zwecke der Behandlung Schizophrener Massenexperimente mit Insulin angestellt und indessen gesehen hatte, daß Menschen mit niederem Blutzucker oft keine Zeichen der Zuckermangelkrankheit boten, während andere mit relativ hohen Zuckerwerten schwere Erscheinungen zeigten. Dies und die Tatsache, daß Personen, die einem KH-Mangel ausgesetzt waren, also muskulär Überanstrengte, Hungernde und Unterernährte, besonders leicht dem „glykopriven Symptomenkomplex" verfielen, ließen die Vermutung aufkommen, daß, wenn auch nicht der Mangel des Blutes an Zucker, so doch ein Zuckermangel der Gewebe als auslösende Ursache in Frage käme (Wilder). Man schlug deshalb vor, den „charakteristischen Beschwerdekomplex" nicht mit dem engeren Beiwort „hypoglykämisch", sondern weitergefaßt als „hypoglykotisch" zu kenn-

zeichnen (Schlomka). Von anderer Seite wurde wieder behauptet, daß die Senkung des Liquorzuckers, die sogenannte „Hypoglykorachidie" in ursächlicher Beziehung zum Koma stehe (Zeghauser und Erb.). Bemerkenswert ist weiter, daß auch Überernährung als Ursache der genannten Erscheinungen angesehen wurde. Man nahm an, daß allzu reichliche Nahrungszufuhr gesteigerte Anforderungen an das Pankreas stellt und infolge momentan fehlender KH-Zufuhr eine Phase von „Hyperinsulinismus" zur Auslösung der Mangelsymptome führe (Staub).

Die Vielzahl von Wortprägungen, die denselben Begriff definieren sollen, läßt vermuten, daß Klarheit über die Pathogenese des „hypoglykämischen Symptomenkomplexes" noch nicht besteht. Mit Recht konnte deshalb v. Braunmühl in seiner Monographie von einem „Janusbild" der Blutzuckerkurve sprechen. Es fällt auf, daß alle genannten Beziehungen zum KH-Haushalt zutreffen können, aber nicht zutreffen müssen. Eine bestimmte Insulindosis kann z. B. einen Schock auslösen, sie muß ihn aber nicht hervorrufen. Ein gewisser Grad von Hypoglykämie kann zum Schock führen, nicht immer aber wird starke Blutzuckersenkung mit einem Schock einhergehen. Das gleiche gilt für die Hypoglucosie: So wenig Hypoglykämie regelmäßig zum Koma zu führen braucht, ebensowenig können bei dem gegensätzlichen Verhalten zwischen Blut- und Gewebszucker konstante Beziehungen zwischen Koma und Hypoglucosie erwartet werden. Auch die Annahme gesetzmäßiger Beziehungen zwischen Liquorzuckerspiegel und Koma trifft, wie aus Fischers Untersuchungen hervorgeht, nicht zu. Trotz alledem aber bleibt es überraschend, daß KH-Zufuhr leichte und schwerste Erscheinungen in den allermeisten Fällen beseitigt. Das läßt den Schluß ableiten, daß der KH-Haushalt sicher eine Rolle spielt, offensichtlich aber nicht allein den Ausschlag gibt.

II.

Beziehungen zu anderen Faktoren.

Man dachte deshalb an Zusammenhänge mit anderen endokrinen Drüsen, um so mehr, als bekannt ist, daß Unterfunktion der Nebenniere, der Schilddrüse, des Hypophysenvorderlappens, der Speicheldrüsen, des Magens, der Leber, vielleicht auch die der Nebenschilddrüsenkörperchen und des Genitale Hypoglykämie auslösen können; man zog auch in Betracht, daß Neurosen, Psychosen, Epilepsie, Vagotonie, Allergie, Muskeldystrophie den Blutzucker zu dämpfen in der Lage sind. Auch Stoffwechselvorgänge wollte man für den Schock verantwortlich machen. Toxische Substanzen, die aus dem Zucker entstehen (Methylglyoxal, Glucosan), abnorme Produkte des intermediären Stoffwechsels, Bildung von Reizstoffen, besonders von Krampfgiften für das Zentralnervensystem, Veränderung der Gesamtstoffwechsellage, osmotische und vasomotorische Vorgänge, Unfähigkeit der Zellen, den Zucker zu verbrennen, Steigerung des Liquordruckes sind weitere Beispiele der auf diesem Gebiete aufgestellten Hypothesen. „Man kann nicht behaupten", so sagt Wilder abschließend in seiner 1936 erschienenen „Klinik und Therapie der Zuckermangelkrankheit" betitelten Schrift, „daß durch eine dieser Hypothesen die Pathogenese des einzelnen glykopenischen Anfalls noch der Glykopenie überhaupt weder einfach, noch in jedem Punkte voll aufgeklärt wäre". Und dem muß man heute noch zustimmen.

Versuchen wir nun vom klinischen Bilde aus Einblick in die inneren Vorgänge beim sogenannten „hypoglykämischen Symptomenkomplex" zu gewinnen, so kann man wohl feststellen, daß nach kleinen Insulindosen z. B. sich nur rein „vegetative Symptome" einstellen, nach großen dagegen „psychische und zentralnervöse", wie Sigwald sie seiner Einteilung zugrunde legte. Kann man aber unter solchen Umständen, nur weil gewisse chronologische Zusammenhänge möglich sind, annehmen, daß Symptome, die durchaus im Bereich des Physiologischen liegen, wie Hunger und Adynamie, Ausdruck desselben Geschehens sind, das zu schwersten zentralen Erscheinungen, wie Krämpfen und Bewußtseinsverlust, führt? Wenn dies der Fall wäre, dann müßte Zuckerzufuhr regelmäßig den „hypoglykämischen Schock" beseitigen. Das trifft aber nicht zu. Im Gegenteil, die Blutzuckerkurve beginnt oft vor Eintritt des tiefen Komas wieder anzusteigen, und in manchen Fällen führt Zuckergabe gerade zur Schockverstärkung. So bleibt denn als einziges Positive die Tatsache, daß gewisse Beziehungen zwischen Zuckerhaushalt und „glykopenischem Schock" bestehen, daneben aber weitere, noch unbekannte Ursachen mitwirken.

III.

Beziehungen zum Säurebasenhaushalt.

Das gehäufte Auftreten von „hypoglykämischem Schock" kurz nach dem Einschlafen und vor dem Erwachen, ferner seine Abhängigkeit von Nahrungsaufnahme war für mich die Veranlassung, dem Säurebasenhaushalt besondere Beachtung zu schenken. Bereits in früheren Untersuchungen hatte ich gefunden (Dienst und Winter), daß Blutzucker und Alkalireserve beim Wechsel vegetativer Funktionen sich gegensinnig verändern. So z. B. beim Schlaf und Wachsein, oder bei Hyperventilation und normaler Atmung. Dieses gegensinnige Verhalten kann demnach als eine durchaus physiologische Regulation angesehen werden.

Ich konnte ferner den Nachweis erbringen, daß bei abnormen Zuständen, z. B. im Schmerz, eine am Verlauf der Blutzucker- und Kohlensäurespannungskurve nachweisbare Regulationsstörung vorliegt (Dienst). Dieses ist offenbar ein Zeichen für den Zusammenbruch vegetativer Regulationen. Da dieser abwegige Reaktionsablauf weder als Hyper- und Hypoglykämie, noch durch azidotische oder alkalotische Tendenz, noch durch Sympathico- oder Parasympathicotonus zu charakterisieren war, habe ich ihn als „dyskrasische Fehlsteuerung" bezeichnet. Sollte da nicht auch diese dyskrasische Fehlsteuerung die Ursache des sogenannten hypoglykämischen Symptomenkomplexes darstellen, zumal Kopfschmerz mit zu den Zentralsymptomen des hypoglykämischen Schockes gehört?

a) Eigene Versuche.

Zur Klärung der Verhältnisse habe ich Untersuchungen am Menschen und am Hunde vorgenommen und versucht, mich zunächst über die Ver-

hältnisse bei der durch kleine Insulindosen erzeugten Hypoglykämie (ohne Schock) zu orientieren.

Dabei fand ich die Verhältnisse bestätigt, die ich früher bei der spontanen Hypoglykämie und meinen Untersuchungen über Schlaf zu machen Gelegenheit hatte: Blutzuckeranstieg ging mit azidotischer Stoffwechselrichtung, Senkung mit alkalotischer einher (Abb. 1).

Es erschien wichtig, nochmals diese Verhältnisse bei der insulinären Hypoglykämie herauszustellen, um sie mit denen im „hypoglykämischen Schock" zu vergleichen:

Die Abb. 2 zeigt einen Schock, der beim Hunde nach subcutaner Injektion von 50 Einheiten Insulin hervorgerufen wurde. Die normalen

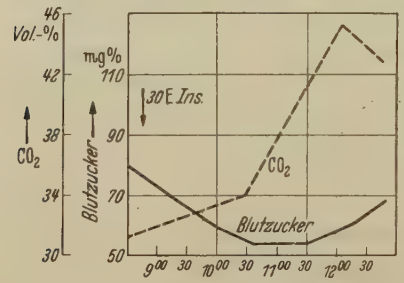


Abb. 1.

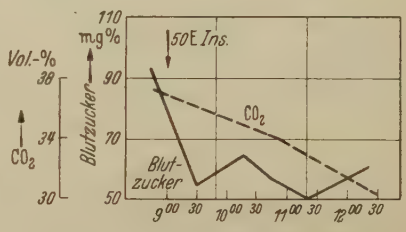


Abb. 2.

Regulationen sind, wie ersichtlich, im Schock durchbrochen. Die „dyskrasische Fehlsteuerung" kommt dadurch zum Ausdruck, daß Hypoglykämie jetzt unter der Wucht „unphysiologischer Insulindosen" mit azidotischer Stoffwechselrichtung verläuft.

Diese Azidose war ein regelmäßiger Befund. Damit stimmt überein, daß von anderer Seite nach großen Insulindosen eine beträchtliche Steigerung des Blutmilchsäuregehaltes festgestellt wurde (Virtanen, Kato, Vollaso, Cori und Cori). Ähnliche Feststellungen machte Jahn. Auffallend ist es dagegen, daß von manchen Autoren mitgeteilt wird, daß während des Insulinkomas sich die Alkalose verstärkte (Accornero und Bini, Beiglböck und Dussik).

Nach meinen Erfahrungen tritt nach großen Insulindosen eine Alkalose nur in den ersten Minuten nach der Injektion auf.

b) Diskussion.

Es bestehen also, wie nach dem klinischen Symptomenbild zu erwarten war, grundlegende Unterschiede zwischen Hypoglykämie und hypoglykämischem Schock. Der hypoglykämische Schock ist mehr als die bloße Fortsetzung der Hypoglykämie. Es wäre aber abwegig, wollte man den hypoglykämischen Schock nur als Störung der Blutzucker- und Säurebasenregulation charakterisieren. Das ist deshalb schon unmöglich, weil Blutzucker und Säurebasenregulation an sich schon komplexe Vorgänge sind. Man wird vielmehr im hypoglykämischen Schock, ebenso wie

bei anderen Schockformen, ein Versagen der inneren Balance erblicken müssen. Dann aber haben Hypoglykämie und hypoglykämischer Schock nicht mehr oder weniger Gemeinsames, als z. B. die Kompensation und Dekompensation eines Organs. Die auslösende Ursache einer solchen Dekompensation freilich vermag von Fall zu Fall verschieden sein. Dafür sprechen die vielseitigen, von mir unter II bereits erwähnten Gelegenheitsursachen. Auch konstitutionelle Momente und die allgemeine Reaktionslage des Organismus sind mitbestimmend. Beispiele dieser Art kennen wir auch von anderen Schockarten. Rehn berichtet z. B. in seiner Monographie über den Schock, daß Soldaten im Weltkriege nach den Aufregungen einer Materialschlacht auf eine an und für sich geringfügige Verletzung in echten Schock fielen. Unter Würdigung solcher Faktoren wird es denn auch verständlich, daß bei manchen Menschen schon 5—8 Einheiten Insulin einen „Status glykopenicus" auslösen können, bei anderen Schock selbst nach großen Insulindosen nicht eintritt. Darauf werde ich später gesondert zurückkommen.

c) Schockhypothese.

Man wird auch die Korrelationsstörung im Bereich der Säfte nicht unmittelbar als schockauslösend ansehen dürfen. Die nervösen und psychischen Erscheinungen deuten vielmehr darauf hin, daß im Schock auch das Zentralnervensystem erheblich in Mitleidenschaft gezogen ist.

Methodische Gründe jedoch gestatten es heute noch nicht, die Vorgänge im Gewebe und in den Ganglienzellen objektiv zu verfolgen. Wir sind deshalb gezwungen, vom Blute aus Analogieschlüsse auf Erscheinungen innerhalb der Zellen zu ziehen. Wir wissen, daß physikalischen Gesetzen entsprechend Blutzuckersenkung einen Zuckeranstieg im Gewebe nach sich zieht und umgekehrt. Es ist weiter bekannt, daß die stärksten Erscheinungen des Schockes nicht etwa mit der stärksten Blutzuckersenkung zusammenfallen, sondern erst auftreten, wenn der Blutzucker wieder ansteigt. Daraus ist zu folgern, daß der Schock erst auftritt, wenn das Gewebe an Zucker verarmt ist, und es den Zellen an Brennmaterial fehlt. Die Kohlehydrate aber, als leicht verbrennbare Betriebsmittel, haben die Aufgabe, die Oxydationsvorgänge im Körper aufrechtzuerhalten. Fehlt es an KH, so kommt es, wie wir von Hungerzuständen und vom Diabetes her wissen, zur Retention von Stoffwechselschlacken und damit zur Azidose. Solange nun die Basenreserven der Zellen ausreichend sind, wie z. B. bei der einfachen Hypoglykämie, können die Stoffwechselprodukte gebunden und unschädlich gemacht werden. Sind aber auch die Basenvorräte erschöpft, so wirken die intermediären Restprodukte als Gifte und zellschädigend. Sie üben damit auf die Ganglienzellen einen krankhaften Reiz aus und verursachen so Krämpfe, Bewußtseinsverlust usw., Symptome, wie sie für den Schock typisch sind. So dürfte also nicht der

KH-Mangel, sondern die infolge KH-Mangels der Gewebe nicht abbaufähigen sauren Stoffwechselprodukte bzw. die durch sie bedingte Schädigung des Zentralnervensystems bei der Schockauslösung im Vordergrunde stehen.

IV.

Schocktherapie.

Zuckerzufuhr pflegt den Schock gewöhnlich zu beseitigen. Der Gewebszucker wird erhöht und die Voraussetzung für den Fortgang der Verbrennung ist wieder gegeben. So ist es denn auch verständlich, daß Zuckerzufuhr nicht nur den Blutzucker erhöht, sondern auch die Azidose zum Verschwinden bringt.

Das ist aber nicht immer der Fall. Die Erfahrungen, die das Massenexperiment der Insulinbehandlung Schizophrener gewinnen ließ, zeitigten die beachtliche Tatsache, daß nach Zuckerzufuhr nicht selten zwar die Hypoglykämie verschwand, der Schock aber trotzdem bestehen blieb oder sich wieder einstellte und durch keine Maßnahme zu beseitigen war. (Sackel, Dussik, Freudenberg, Lappien und Peters, Hesse, Lempke, v. Braunmühl.) Es liegt dabei nahe anzunehmen — und meine Beobachtungen bestätigten dies —, daß in den entsprechenden Fällen die Azidose fortbestand, obwohl der Blutzucker normale oder übernormale Werte anzeigte. Man muß sich wohl vorstellen, daß es unter der Einwirkung der Stoffwechselschlacken in diesen Fällen zu einer Schädigung der Zellvitalität gekommen war, so daß es der Zelle unmöglich wurde, den ihr angebotenen Zucker noch zu verwerten. Beseitigung der Azidose müßte demnach den zuckerrefraktären Schock günstig beeinflussen.

Diese Fragen experimentell zu klären, habe ich dadurch versucht, daß ich Hunden in schwerem Schock (ohne Zuckerzufuhr) intravenös Alkalilösung injizierte. Verwandt wurde dabei eine Lösung von 5,5% Natrium (Mischung von Bicarbonat und Soda), die es gestattet, in kleinster Flüssigkeitsmenge größte Alkalidosen in Lösung zu bringen. Das Ergebnis dieser Versuche entsprach ganz den Erwartungen. Tiere, die im Schock lagen, wurden meist schon während der Injektion munter und liefen anschließend umher. Ein Blick auf die Abb. 6 zeigt, daß infolge der Injektion eine ausgesprochene Alkalose auftrat, so daß daraus die klinische Besserung verständlich sein könnte.

Die Besserung hielt aber nicht lange an. Nach etwa 10—15 Minuten begann der Schockzustand wieder einzutreten, und auch das wird an Hand der Abb. 6 (S. 658) begreiflich: Die Alkalose vermochte die Blutzuckersenkung nicht aufzuhalten, sondern gab sogar den Anstoß zu weiterem Abfall.

Die Tatsache der Abhängigkeit des Blutzuckerspiegels von der Reaktionslage im Säurebasenhaushalt war bereits Autoren der Vorinsulinaera (Elias, Elias und Sammartino, Briecker, Kretschmer) be-

kannt. Sie haben nachgewiesen, daß die Blutzuckersenkung durch Alkali auf Hemmung der Glykogenmobilisierung und Steigerung des Zuckerverbrauches beruht.

Will man sich demnach die klinische Besserung des Schockzustandes durch Alkali erklären, so könnte man sagen: Verschiebungen des Säurebasengleichgewichtes zur alkalischen Seite ermöglichen es den Zellen, den ihnen noch verfügbaren Zucker zu verbrennen und so die Azidose zu überwinden. Da aber die Zuckervorräte im hypoglykämischen Schock immerhin nur geringe sind und unter der Alkaliwirkung weiterhin abnehmen, kann die klinische Besserung zeitlich nur eine begrenzte sein. So braucht es auch nicht wunderzunehmen, daß Alkali versagen muß, wenn die Zellen im Schock durch eine Dauerepilepsie hochgradig ihres Glykogen beraubt sind. Daraus kann man ableiten, daß es zum Zwecke der Schockunterbrechung nützlich ist, Zucker zusammen mit Alkali zu verabreichen. In meinen Versuchen am Tiere habe ich jedoch nur Alkali gegeben, weil mir daran lag, die Alkaliwirkung auf den Schock im Prinzip zu klären.

Ich habe ferner einer Anzahl von Versuchstieren im Schock Salzsäure intravenös injiziert in Dosen von je 50 ccm der n/10 Lösung.

Versuche früherer Autoren hatten ergeben, daß Säure zu einem Anstieg der Blutzuckerwerte führt, dadurch, daß sie die Glykogenmobilisierung aus der Leber steigert und die Zuckerverbrennung hemmt. — Es mußte interessant erscheinen, zu prüfen, wie der Schock sich bei einem durch Azidose erzeugten Blutzuckeranstieg verhält. Die Abb. 7 (S. 658) eines solchen Versuchs zeigt, daß es durch Säureinjektion möglich ist, den im Schock erniedrigten Blutzucker auf normale und übernormale Werte zu steigern. Trotzdem aber änderte der schwere Schockzustand sich kaum.

Bekanntlich sieht man einige Stunden nach der Insulininjektion den Blutzucker im Schock spontan wieder ansteigen. Auch dieser Blutzuckeranstieg ist Folge der Azidose und stellt offenbar den äußersten Versuch des Organismus dar, durch ein Mehrangebot von Kohlehydraten die Verbrennung der ihn in seiner Existenz bedrohenden Stoffwechselschlacken zu erzwingen.

Eine nicht unerhebliche Ähnlichkeit in ihrer Wirkungsweise mit der Säuredarreichung besitzt die Adrenalininjektion. Adrenalin steigert den Blutzucker, verstärkt die Schockazidose und ist imstande, den nicht zu schweren Schock günstig zu beeinflussen. Gegenüber der Zuckeranwendung besitzt es im Grunde genommen keinen Vorteil, weil es eben die Schockazidose verstärkt. Trotzdem hat sich in vielen Fällen die Schockunterbrechung durch Adrenalin praktisch bewährt, und zwar bei den Kranken, die infolge motorischer Unruhe oder von Krämpfen zur Sondeneinführung oder zu intravenöser Injektion ungeeignet sind. Aber ebenso sicher ist es, daß Adrenalin im schweren Schock versagt. Sackel selbst warnt auf Grund klinischer Beobachtungen sogar bei solchen Zuständen vor Adrenalin. Die folgende Abbildung 3 stammt von einem Tiere, das in einem

solch ernsten Schock je 1,0 ccm Adrenalin im Abstand von 1 Stunde erhielt und trotzdem im Schock umkam. Man erkennt, wie bei ansteigenden Blutzuckerwerten nach der Injektion die Azidose erheblich zunahm und somit das Schicksal des Tieres endgültig besiegeln half. Adrenalin also besitzt, abgesehen von technischen Vorteilen, keinen Vorzug vor der Säureinjektion im Schock.

Von anderen Autoren wurde Azetylcholin (Abb. 4) im Schock erfolgreich angewendet. Von diesem parasympathisch wirkenden Mittel versprach ich mir einen besonderen Erfolg. Das Experiment aber zeigte, daß die Beeinflussung auf den Zuckerhaushalt und die Säurebasenverhältnisse durchaus dem des sympathicotropen Adrenalin entsprach. Azetylcholin steigerte den Blutzucker und die Azidose. Damit dürfte es in seiner Auswirkung auf den Schock mit Adrenalin auf die gleiche Stufe zu stellen sein. Ich habe nach der klinischen Beurteilung sogar den Eindruck, daß es weniger prompt wirkt als Adrenalin.

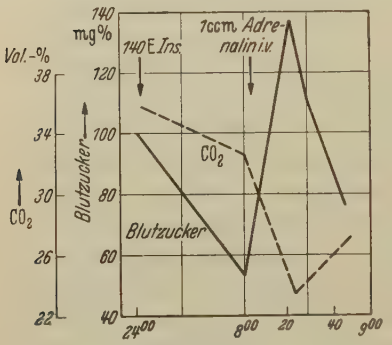


Abb. 3.

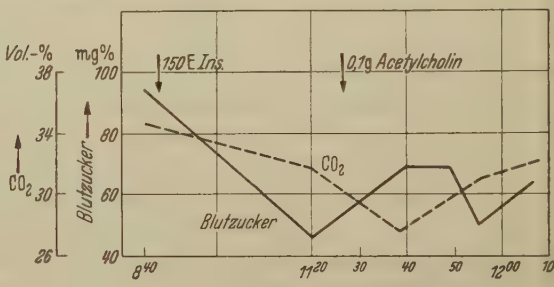


Abb. 4.

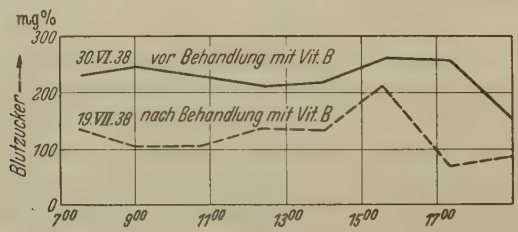


Abb. 5.

Auch Vitamin B_1 wurde zur Schockbeseitigung empfohlen (Freudenberg). Um mich über seine Wirkung zu orientieren, habe ich bei meinen Versuchstieren B_1 im Schock injiziert, aber in den ersten Stunden nach der Einspritzung weder eine Einwirkung auf das klinische Bild des Schockes, noch auf den Blutzucker oder Säurebasenhaushalt gesehen. Trotzdem ist nach Ansicht der meisten Autoren an engen Beziehungen des B-Vitamin zum KH-Haushalt nicht zu zweifeln. Die Wirkung aber tritt erst nach tagelanger Verabreichung zutage. Bei den von mir aus anderen Gründen

untersuchten Diabetikern begann meist erst um den 4. Tag der peroralen B-Zufuhr der B_1-Spiegel im Harn anzusteigen und eine Senkung des Blut- und Harnzuckers nach etwa 10 Tagen aufzutreten. Dann aber war die Wirkung auf den Blutzucker offensichtlich. Der Blutzucker war während der B_1-Behandlung deutlich niedriger (Abb. 5), und es fehlen vor allem (bei gleichbleibender Diät) die erheblichen Schwankungen, die zuvor einzelne Kranke ständiger Gefahr der Hypoglykämie ausgesetzt hatten. Nach unseren Erfahrungen (Dienst-Diemer-Scheer) müssen wir sagen, daß Zufuhr von B (wir wandten Dia-Be-Vitrat an, das pro 100 ccm (1000 E. C) und 200 E. B_1 neben anderen B-Faktoren enthält) den Blutzucker nivelliert und die Neigung zu hypoglykämischer Reaktion herabsetzt. Am ehesten zu verstehen ist diese Tatsache durch einen Erklärungsversuch, der annimmt, daß bei Mangel an Vitamin B_1 sich saure Produkte des KH-Stoffwechsels im Organismus anhäufen. B-Zufuhr fördert ihre Verbrennung. Es ist demnach die Wirkungsweise des B-Vitamins in ihrem Enderfolg eine ähnliche wie die des Alkalis. Beide bewirken die Beseitigung der Azidose, das eine durch Hemmung der Säurebildung, das andere durch Förderung der Säurebindung.

V.

Schock-Prophylaxe.

Bei Diabetikern begegnet man mitunter der bekannten Tatsache, daß sie ohne erkennbare Ursache in den hypoglykämischen Schock fallen. Schockzustände nach kleinsten Insulindosen (5—8 E.) hat man auch bei manchen Schizophrenen gefunden, während andere durch noch so große Dosen nicht in den Schock zu bringen waren. Nachdem sich hatte feststellen lassen, daß der Schockzustand vom Säurebasenhaushalt her prompt zu beeinflussen ist, lag es nahe, auf dem gleichen Wege auch auf den Schockeintritt einzuwirken und der Klärung dieser rätselhaften Beobachtungen näher zu kommen.

Zu diesem Zweck habe ich Hunden, von denen mir durch Vorversuche die Zeit von der Insulininjektion bis zum Schockbeginn bekannt war, einmal Alkali und an einem späteren Tage Säure injiziert. Es kam mir darauf an, festzustellen, ob diese Schockzeit sich durch eine Azidose oder Alkalose beeinflussen läßt. Es erhielt also z. B. ein Hund, der nach 150 E. I. in 2—3 Stunden in den Schock geriet, nüchtern 50 ccm Alkalilösung intravenös, dann 150 E. I. und schließlich in Abständen von je 1 Stunde wieder 50 ccm Alkali. Dabei trat der Schock erst nach 5 Stunden auf. Wurde dagegen in der gleichen Weise statt Alkali Säure injiziert, so geriet das Tier schon nach $^1/_2$ Stunde in Schock.

Nach diesen Versuchen also steht fest, daß eine azidotische Stoffwechselrichtung den Schockeintritt beschleunigt und eine alkalotische ihn verzögert. Die Abb. 6 und 7 illustrieren zudem in eindeutiger Weise meine

Ausführungen über die Einwirkung von Säuren und Basen auf den Blutzucker. Ein mehr oder weniger tiefer Blutzucker gehört also nicht zu den absoluten Voraussetzungen eines Schockes. Die Azidose dagegen ist ein entscheidendes Symptom.

Man wird in der Azidose auch einen Teilfaktor der sogenannten „Spontan-Hypoglykämie Gesunder" vermuten dürfen. Es sind Beobachtungen beschrieben, aus denen hervorgeht, daß bei demselben Patienten trotz niederen Blutzuckers einmal die hypoglykämische Reaktion ausgeblieben, zuvor dagegen bei relativ höherem Blutzuckerspiegel eingetreten

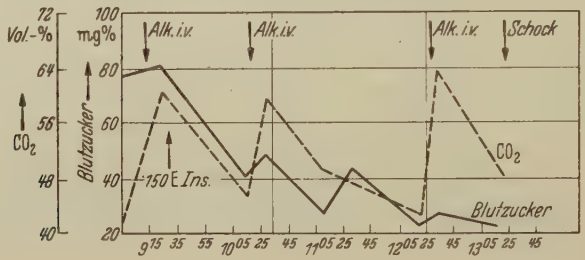


Abb. 6.

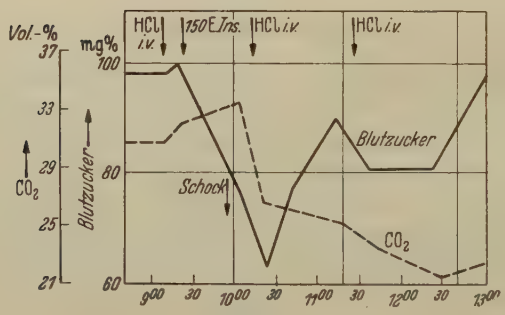


Abb. 7.

war. Es kann also keinesfalls Zuckermangel allein die Ursache darstellen, sondern es wird wahrscheinlich dabei auch die Azidose mitbeteiligt sein. Ich hatte seither keine Gelegenheit, einschlägige Fälle experimentell zu untersuchen, möchte aber in Analogie zu meinen experimentellen Beobachtungen und zu meinen Erfahrungen bei Diabetikern annehmen, daß Ernährung mit basenüberschüssiger Kost solche Zustände günstig zu beeinflussen imstande ist.

VI.

Insulinwirkung und Säurebasenhaushalt.

Die Alkalose senkt zwar, wie gezeigt, den Blutzucker, aber sie erleichtert die Zuckerverbrennung in den Zellen. Sie entfaltet damit eine ähnliche Wirkung wie Insulin, wenn es nicht überdosiert ist. Daraus ergibt sich

weiter, daß es möglich ist, mit kleineren Insulindosen auszukommen, wenn die Insulinbehandlung bei alkalotischer Stoffwechselrichtung, d. h. bei Ernährung mit basenüberschüssiger Kost, durchgeführt wird. Die Alkalose verzögert ferner den Eintritt des Insulinschocks; sie protrahiert also die Insulinwirkung und verleiht so auch dem Alt-Insulin eine Art von Depotwirkung. Die Azidose hat den gegenteiligen Effekt. Auf diese Probleme soll demnächst gesondert eingegangen werden.

Zusammenfassung.

1. Hypoglykämie und hypoglykämischer Schock sind grundverschiedene Vorgänge. Beide zeigen zwar eindeutig Beziehungen zum KH-Haushalt. Der glykopenische Symptomenkomplex aber ist mehr als ein einfacher Zuckermangel.

2. Charakteristisch für letzteren ist die „dyskrasische Fehlsteuerung", die den Ausdruck einer Störung der inneren Balance darstellt und sich aus einer abwegigen Regulation zwischen Blutzucker und Säurebasenhaushalt ermitteln läßt. Bei der einfachen Hypoglykämie geht Blutzuckersenkung mit einem Anstieg der Alkalireserve einher, im Schock dagegen verlaufen Blutzuckerabfall und Azidose parallel.

3. Zuckerzufuhr beseitigt die Hypoglykämie und die Azidose und damit den Schock; im schweren Schock bleibt trotz Zuckerzufuhr und Hypoglykämie die Azidose und der Schock bestehen.

4. Säurezufuhr im Schock verstärkt die Azidose, erhöht den Blutzucker, beeinflußt aber trotzdem kaum den Schock.

5. Alkalizufuhr bringt die Schockazidose zum Schwinden, veranlaßt aber einen weiteren Blutzuckerabfall. Trotzdem wird der Schock vorübergehend beseitigt.

6. Alkalose verbessert — sofern durch die Schockazidose nicht schon irreparable Schädigungen eingetreten sind — die Zuckerverwertung in den Zellen, deshalb sinkt der Zuckerspiegel weiter. Gleichzeitige Zufuhr von Alkali und Zucker zur Schockunterbrechung ist zweckmäßiger als Zuckerzufuhr allein.

7. Adrenalin- und Acetylcholin wirken ähnlich wie Säureinjektion. Sie erhöhen den Blutzucker und verstärken die Azidose. Vitamin B_1 nivelliert und senkt den Blutzucker beim Diabetiker. Seine Wirkung gleicht im Enderfolg der der Alkalizufuhr.

8. Alkalose verzögert, Azidose beschleunigt den Schockeintritt.

9. Alkalose protrahiert die Insulinwirkung und läßt die gleiche Blutzuckersenkung mit kleinerer Insulindosis erzielen.

Die Arbeit wurde mit Unterstützung der Hamspohn-Stiftung der Universität Köln angefertigt, für deren Überlassung ich dem Kuratorium auch an dieser Stelle danke.

Literatur.

Accornero u. Bini: Schweiz. Arch. Neur. **39**, 145 (1937). — Beiglböck u. Dussik: Ebenda **39**, 38 (1937). — v. Braunmühl: Die Insulinschockbehandlung der Schizophrenie. Berlin. Julius Springer. 1938. — Briecker: Klin. Wschr. **1924**, I, 52. — Collaso: Dtsch. med. Wschr. **51**, 600 (1925). — Collaso: Biochem. Z. **158**, 136 (1925). — Cori u. Cori: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**, 249 (1933). — Damesheck, Meyerson u. Stephenson: Arch. Neur. (Am.) **33**, 1 (1935). — Dienst: Ber. Ges. Verdauungs- u. Stoffwechselkrankh., Stuttgart 1938. — Dienst u. Winter: Z. Klin. Med. **133**, 91 (1937). – Dienst: Klin. Wschr. **1938**, S. 380. – Dienst, Diemer u. Scheer: Erscheint in der Dtsch. med. Wschr. — Dussik: Schweiz. Arch. Neur. **39**, 182 (1937). — Elias: Erg. inn. Med. **1924**, S. 25. — Eilias u. Sammartino: Biochem. Z. **117**, 10 (1921). — Fischer: Klin. Wschr. **1938**, S. 886. — Freudenberg: Schweiz. Arch. Neur. **39**, 215 (1937). — Frostig: Ebenda S. 153. — Hesse: Fschr. Ther. **1937**, S. 257. — Jahn: Ber. Ges. Verdauungs- u. Stoffwechselkr., Stuttgart 1938. — Kato, Tokohu, H.: Z. exper. Med. **21**, 298 (1936). — Kretschmer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **57**, 438 (1907). — Lempke: Arch. Psychiatr. (D.) **107**, 233 (1937). — Lappien u. Petco: Z. Neur. **160**, 444 (1937). — Rehn: Der Schock u. verwandte Zustände des Autonomen Systems. Stuttgart, Verlag Enke, 1937. — Sackel: Schweiz. Arch. Neur. **39**, 229 (1937). — Schlomka: Klin. Wschr. **1938**, S. 113. — Staub: Insulin, Berlin 1925. — Virtanen: Z. physiol. Chem. **161**, 218 (1926). — Wilder: Klinik u. Therapie d. Zuckermangelkrankheit. Leipzig, Weidmann, 1936. — Zeghauser u. Erb: Zit. n. Fischer.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Hamburg
(Direktor: Prof. Dr. E. Keeser.)

Untersuchungen über den Einfluß von Arsen- und Antimonverbindungen auf den Zuckerstoffwechsel.

Von
H.-A. Oelkers.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 14. Dezember 1938.)

Bei früheren Untersuchungen war gefunden worden[1], daß Arsenik und Brechweinstein sowie verschiedene andere, therapeutisch gebrauchte Arsen- und Antimonverbindungen[2] in geeigneten Dosen sowohl die durch Adrenalin- oder Traubenzuckerverabfolgung hervorgerufene Blutzuckererhöhung als auch die durch Insulininjektion bedingte Blutzuckererniedrigung verstärken bzw. verlängern. Es erschien daher wichtig, die Wirkung von Arsen- und Antimonverbindungen auf den Nüchternblutzucker festzustellen. Hierbei sollen zunächst die Versuche mit Arsenik beschrieben werden.

Wie bei den früheren Versuchen dienten als Versuchstiere 2—3 kg schwere Kaninchen, die 24 Stunden vor Versuchsbeginn ohne Futter blieben. Nach der Feststellung des Nüchternwertes für den Blutzucker erhielten die Tiere Arsenik in Dosen von 1—10 mg/kg Körpergewicht und in Form einer 0,2—0,5%igen Lösung* intravenös injiziert. Danach wurde der Blutzucker in verschiedenen Abständen (Blutentnahmen nach Bang) nach der Methode von Miller und van Slyke[3], bei der verschiedene Fehlermöglichkeiten, die das viel gebrauchte Verfahren von Hagedorn und Jensen[4] beeinträchtigen können, fortfallen, bestimmt (vgl. hierüber E. Vincke[5]). Das Ergebnis dieser Versuche zeigt Tabelle 1.

Aus der Tabelle 1 ist zu ersehen, daß Arsenik bereits von etwa 2 mg/kg Körpergewicht an blutzuckersteigernd wirkt. Stärker und nachhaltiger wirken allerdings erst größere Dosen. So erhöhen Dosen von 4—6 mg Arsenik pro kg Körpergewicht bei intravenöser Injektion den Blutzucker

* Eine abgwogene Menge von Acidum arsenicosum pulv. pro analysi (Merck) wurde durch Erwärmen in n/2 NaOH gelöst; darauf wurde mit n/10 HCl neutralisiert und auf ein bestimmtes Volumen mit Aqua dest. aufgefüllt.

[1] Oelkers, H.-A., u. H. Lüders: Klin. Wschr. **1937**, 680; Oelkers, H.-A.: Ebenda **1937**, 1204; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 56 (1937). — [2] Oelkers, H.-A.: Festschrift Nocht, Hamburg 1937, S. 418. — [3] Miller, B. F., u. D. D. van Slyke: J. biol. Chem. (Amer.) **114**, 583 (1934). — [4] Hagedorn, H. C., u. B. N. Jensen: Biochem. Z. **135**, 46 (1923); **137**, 92 (1923). — [5] Vincke, E.: Klin. Wschr. **1937**, S. 882.

Tabelle 1.

Nr.	As_2O_3 mg/kg	Blutzucker in mg nach Stunden							
		nüchtern	1	3	4	5	6	7	8
1	1	93	96	91	92	—	94	—	89
2	1	112	120	112	104	—	97	—	92
3	2	98	108	111	—	107	—	96	—
4	2	107	129	129	—	120	113	—	105
5	3	98	102	114	—	128	—	108	—
6	3	89	101	121	—	—	119	—	101
7	4	98	—	—	123	—	—	99	—
8	4	102	98	122	158	—	235	170	—
9	4	96	105	109	—	113	—	125	198
10	5	96	—	—	274	290	283	250	—
11	5	94	131	151	—	167	—	—	—
12	5	115	109	142	—	148	—	142	303
13	5	81	121	130	—	124	—	110	95
14	5	95	104	—	208	—	—	148	—
15	5	91	131	126	136	—	136	—	—
16	5	89	138	—	186	—	—	165	—
17	5	113	181	—	183	—	—	122	—
18	5	103	123	152	—	195	—	162	—
19	6	90	170	—	207	—	—	201	—
20	6	84	159	121	—	220	—	154	—
21	6	88	105	109	—	133	—	128	—
22	6	101	221	382	—	451	—	344	—
23	6	92	—	—	159	—	123	—	—
24	6	102	—	—	350	344	377	360	350
25	6	111	—	—	272	327	336	334	—
26	6	108	109	121	—	290	250	245	—
27	7	101	186	243	—	382	—	354	—
28	7	98	100	123	—	156	—	144	—
29	7	100	101	113	128	—	131	—	132
30	8	102	184	166	—	135	—	111	—
31	8	119	115	187	—	161	—	136	—
32	8	87	149	154	—	141	—	128	—
33	10	99	185	337	—	355	—	258	—

für längere Zeit auf ein Vielfaches der Norm. Häufig war noch 8 Stunden nach der Arsenikgabe eine zum Teil sehr erhebliche Hyperglykämie festzustellen (vgl. z. B. Nr. 9, 12 und 24). Die Injektion noch höherer Arsenikgaben — untersucht wurden Dosen von 7, 8 und 10 mg Arsenik pro kg Körpergewicht — bewirkte ebenfalls eine starke Blutzuckersteigerung, doch war diese nicht stärker als die Blutzuckererhöhungen, die nach intravenöser Injektion von 5—6 mg Arsenik pro kg Körpergewicht aufzutreten pflegten.

Die intravenöse Injektion von 6 mg Arsenik pro kg Körpergewicht wirkte bei etwa 50% der Versuchstiere tödlich. Nach dieser Dosis trat übrigens ebenso wie nach den höheren Gaben bereits kurz nach der Injektion Diarrhöe auf. Die Tiere zeigten ferner beschleunigte Atmung und leichte Unruhe. Gegen Ende des Versuchs machten die Kaninchen äußerlich fast stets wieder einen normalen Eindruck und verzehrten anscheinend mit Appetit das ihnen gereichte Futter. Jedoch starben alle Tiere, die mehr als 6 mg Arsenik pro kg Körpergewicht erhalten hatten, innerhalb von 24—36 Stunden nach der Injektion.

Die Kaninchen, denen 5 mg Arsenik pro kg Körpergewicht intravenös injiziert worden war, blieben fast alle am Leben. Kurz nach der Injektion zeigten sich beschleunigte Atmung und Unruhe. Gewöhnlich erfolgten in den nächsten Stunden einige breiige oder dünnflüssige Stühle.

Noch niedrigere Arsenikdosen verursachten bei den Kaninchen keine äußerlich erkennbaren Vergiftungssymptome; Diarrhöe wurde nicht beobachtet.

Im Verlauf der Untersuchungen, die sich über längere Zeit (mehr als 1 Jahr) erstreckten, fiel sehr bald auf, daß die einzelnen Kaninchen auf gleiche Arsenikgaben mitunter sehr verschieden starke Blutzuckererhöhungen aufwiesen. Dies geht z. B. aus den in der Tabelle aufgeführten Werten für die Tiere Nr. 19—26 hervor, die sämtlich 6 mg Arsenik pro kg Körpergewicht intravenös erhalten hatten und bei denen die Blutzuckersteigerung nicht nur zu verschiedenen Zeiten nach der Injektion begann, sondern außerdem auch recht verschieden stark ausfiel. Ein Zusammenhang zwischen Eintritt und Umfang der Hyperglykämie war hierbei nicht festzustellen.

Dieser Befund ist allerdings weniger befremdend, wenn man bedenkt, daß wohl alle Versuchstiere, besonders vielleicht Kaninchen, große individuelle Verschiedenheiten in ihrer Reaktion auf Blutzuckergifte aufweisen (vgl. z. B. Geness und Komissarenko[6]). Besonders scheint dies der Fall bei blutzuckersteigernden Giften zu sein (vgl. z. B. Oelkers und Schütze[7]).

So zeigte sich bei eigenen Versuchen mit Adrenalin an einer größeren Zahl von Kaninchen, daß 30 Minuten nach der intravenösen Injektion von 0,02 mg Suprareninhydrochlorid pro kg Körpergewicht der Blutzucker nach 30 Minuten im allgemeinen um 60—70 mg% angestiegen war. Es kommen jedoch Tiere vor, bei denen der Blutzucker nach dieser Adrenalindosis um mehr als 100 mg% ansteigt, ebenso wie es Kaninchen gibt, bei denen nur eine Blutzuckererhöhung um 10 oder 20 mg% eintritt.

Bei den Versuchen mit Arsenik fiel ferner das gleichartige Verhalten einer Gruppe von acht Kaninchen auf, die Ende Juli 1937 im Versuch waren und die nach Arsenikgaben von 4—6 mg pro kg Körpergewicht sämtlich eine verhältnismäßig geringe Blutzuckersteigerung (nie über 140 mg%) aufwiesen. Es stellte sich dann heraus, daß es sich hierbei um Tiere gehandelt hatte, die aus äußeren Gründen einige Wochen lang unzureichend (Gras, Brotabfälle) ernährt worden waren und die sich zur Zeit des Versuchs in einem abgemagerten Zustand befanden. Es lag daher nahe, einen Zusammenhang zwischen der Arsenikwirkung auf den Blutzucker mit Menge und Art der Nahrung der Kaninchen anzunehmen. Hierbei könnte vielleicht auch der verschiedene Gehalt der Nahrung an Elektrolyten, an Säuren und Basen eine Rolle spielen (vgl. Bertram[8]). Insbesondere wirkt nach Bertram Säuerung des Organismus verstärkend auf Hyperglykämie bewirkende Gifte.

[6] Geness, S. G., u. W. P. Komissarenko: Biochem. Z. **285**, 420 (1936). — [7] Oelkers, H.-A., u. G. Schütze: Klin. Wschr. **1938**, S. 871. — [8] Bertram, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **126**, 267 (1917).

Zur näheren Untersuchung dieser Frage wurde zunächst eine Gruppe von acht Kaninchen etwa 3—4 Wochen lang ausschließlich und sehr reichlich mit Hafer ernährt. Aus äußeren Gründen war es nicht möglich, eine größere Zahl von Tieren für diesen Versuch zu benutzen. Die Haferfütterung bewirkte sehr bald eine Verschiebung des Stoffwechsels nach der azidotischen Seite, so daß der vorher alkalisch reagierende Urin der Kaninchen nach 3—4 Tagen deutlich sauer reagierte. Eine kleine Gewichtsverminderung der Tiere, die in den ersten Tagen nach Beginn der Fütterung mit Hafer eintrat, wurde bald wieder ausgeglichen und nach etwa 3 Wochen war bei allen Tieren eine geringe Gewichtszunahme zu verzeichnen.

Nachdem diese Kaninchen dann 24 Stunden ohne Nahrung geblieben waren, erhielten sie nach Feststellung des Blutzuckernüchternwertes 5 bzw. 6 mg Arsenik pro kg Körpergewicht intravenös injiziert. Die im Anschluß hieran eintretende Blutzuckerveränderung zeigt die Tabelle 2.

Tabelle 2.

Nr.	As_2O_3 mg/kg	Blutzucker in mg nach Stunden				
		nüchtern	1	2	4	7
1	5	93	122	128	177	161
2	5	95	144	147	208	148
3	5	103	203	400	522	598
4	5	91	137	311	347	301
5	6	103	104	142	132	114
6	6	97	88	103	162	137
7	6	89	113	189	267	283
8	6	95	193	347	481	380

Aus der Tabelle 2 geht hervor, daß bei allen Tieren im Anschluß an die Arsenikinjektionen erhebliche Blutzuckererhöhungen auftraten. Man erkennt aber ferner, daß auch bei diesen Tieren die Blutzuckersteigerung verschieden stark ausfiel. Trotzdem hat man den Eindruck, daß bei diesen Tieren Arsenik regelmäßiger hohe Blutzuckerwerte herbeiführte als bei den in Tabelle 1 aufgeführten Versuchen.

Besonders eigenartig ist die Erhöhung des Blutzuckers auf nahezu das Sechsfache der Norm bei dem unter Nr. 3 der Tabelle 2 aufgeführten Kaninchen. Da es sich bei diesem Kaninchen um ein Tier handelte, das im Verlaufe der Haferfütterung verhältnismäßig stark zugenommen hatte (von 2,5 auf nahezu 2,8 kg), so gewann die Vermutung, daß die blutzuckererhöhende Wirkung des Arseniks bis zu einem gewissen Grade von dem Ernährungszustand der Kaninchen abhängen könnte, an Wahrscheinlichkeit.

Es wurden daher 12 weitere Kaninchen mehrere Wochen hindurch besonders reichlich ernährt und außerdem 10—14 Tage lang mit Insulin-Traubenzuckerinjektionen behandelt. Hierbei erhielten die Tiere täglich 3—6 Einh. Insulin (Bayer) und anschließend 5—10 ccm einer 20%igen

Traubenzuckerlösung subcutan injiziert. Das sehr reichlich bemessene Futter bestand aus Rüben. Das Gewicht der Tiere, das täglich kontrolliert wurde, stieg während der Versuchsdauer um bis zu 200 g an. Die Tabelle 3 zeigt indessen, daß die Arsenikwirkung auf den Blutzucker bei diesen Tieren durchaus nicht besonders stark war. Nur bei einem dieser Tiere (Nr. 10)

Tabelle 3.

Nr.	As_2O_3 mg/kg	Blutzucker in mg nach Stunden					
		nüchtern	1	2	3	5	7
1	2	95	129	—	164	117	101
2	3	91	127	—	121	118	95
3	3	91	133	—	154	164	126
4	4	120	134	—	144	141	121
5	4	104	136	—	139	127	104
6	4	112	142	—	139	156	109
7	5	79	129	120	123	180	187
8	5	79	149	137	169	152	105
9	5	98	187	158	137	111	119
10	6	87	145	214	252	242	196
11	6	82	92	116	136	126	92
12	6	86	148	151	120	118	114

wurden Blutzuckerwerte von über 200 mg% festgestellt. Eine verhältnismäßig starke blutzuckererhöhende Wirkung zeigte sich nur bei den mit niedrigen Arsenikdosen behandelten Kaninchen. Bei den anderen Tieren fällt jedoch auf, daß sie hinsichtlich ihres Blutzuckers gleichmäßiger auf Arsenik reagierten als die Tiere der Tabelle 1.

In einigen Versuchen mit Neosalvarsan (100 und 150 mg/kg), Arsacetin (350 und 500 mg/kg) und Arsensäure (6 mg/kg) konnten während einer Versuchsdauer von bis zu 10 Stunden keine oder doch nur ganz geringe Blutzuckererhöhungen (nicht über 130 mg%) festgestellt werden.

Von Provinciali[9] wird angegeben, daß die einmalige Injektion einer kleinen Arsenikmenge (1 mg/kg) eine Senkung, die an mehreren Tagen nacheinander wiederholte Arsenikinjektion dagegen eine Erhöhung des Blutzuckerspiegels verursacht. Bei eigenen Versuchen ließ sich dieser Befund nicht bestätigen. Die genaue Durchsicht der von Provinciali mitgeteilten Versuchsprotokolle zeigte im übrigen, daß die beobachteten Blutzuckerveränderungen ganz unerheblich waren und zum Teil sogar noch innerhalb der Fehlergrenze der benutzten Blutzuckerbestimmungsmethode lagen.

Weitere Versuche wurden mit verschiedenen Antimonverbindungen vorgenommen. Hierbei zeigte es sich, daß diese nicht wie Arsenik zu einer Hyperglykämie führen, sondern es tritt vielmehr etwa 6—8 Stunden nach der intravenösen Injektion von Brechweinstein, von Fuadin oder von Neostibosan in höheren Dosen bei der Mehrzahl der Kaninchen eine zwar leichte, aber doch deutliche Senkung des Blutzuckerspiegels ein (vgl. Tabelle 4).

[9] Provinciali, C.: Arch. ital. Sci. farmacol. **1**, 15 (1932).

Tabelle 4.

Nr.	Brechweinstein mg/kg	Blutzucker in mg nach Stunden											
		nüchtern	1	2	4	5	6	7	8	9	10	16	24
1	4	101	—	99	100	—	95	—	91	—	88	—	—
2	5	93	—	80	86	—	80	—	84	—	—	—	—
3	6	97	—	90	87	—	84	—	76	—	—	—	—
4	8	102	—	118	116	—	120	—	113	—	—	—	—
5	8	98	—	102	99	—	87	—	79	—	—	—	100
6	9	124	—	—	98	—	63	—	70	68	62	—	—
7	9	110	—	—	95	—	86	83	76	71	68	71	—
8	9	98	—	—	92	—	76	77	85	80	76	82	88
9	9	102	97	106	101	91	87	81	81	75	—	—	—
10	9	92	91	—	84	82	83	82	78	—	—	—	30
11	9	94	98	—	82	—	—	86	—	73	—	—	89
12	9	99	102	—	101	—	87	—	71	63	—	—	82
13	9	101	—	—	—	—	—	—	69	—	84	87	80
14	9,5	103	—	—	—	—	90	—	81	—	—	71	57
15	9,5	94	—	—	—	—	81	—	—	72	—	—	69
16	9,5	82	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	72
17	10	99	91	87	90	—	—	57	—	—	—	—	—
18	10	87	96	—	97	95	—	72	—	—	—	—	—
19	10	93	—	80	83	—	76	—	74	—	—	—	63
20	10	93	—	90	96	—	81	—	84	—	—	—	88
	Fuadin mg/kg												
1	50	91	—	93	91	—	87	—	82	—	—	—	—
2	60	83	—	89	91	—	82	—	78	—	—	—	—
3	70	90	—	90	—	100	—	77	—	—	—	—	78
4	70	107	—	—	101	—	—	73	—	—	—	—	81
5	80	97	—	93	75	—	65	—	—	—	—	—	—
	Neostibosan mg/kg												
1	100	79	—	94	86	—	73	—	—	—	77	—	—
2	150	101	—	98	95	—	78	—	81	—	—	—	83
3	200	121	—	103	—	96	—	93	—	72	—	—	—
4	150	102	—	96	85	—	87	—	74	—	—	—	75
5	200	98	—	88	87	—	94	—	77	—	—	—	86

Die Injektion kleinerer Dosen der genannten Verbindungen hatte keine Wirkung auf den Blutzucker der Kaninchen. In einigen Fällen blieb die Erniedrigung des Blutzuckerspiegels auch nach hohen Dosen dieser Verbindungen aus oder lag an der Grenze der bei gesunden Tieren nach längerem Hungern zu findenden Werte. Bei zwei Tieren — Nr. 10 und Nr. 14 der Tabelle 4 —, die etwa 25 bzw. 28 Stunden nach der intravenösen Injektion von 9 bzw. 9,5 mg Brechweinstein pro kg Körpergewicht plötzlich nach kurzdauernden Krampfanfällen starben, konnten kurz vor dem Tode (24 Stunden nach der Injektion des Brechweinsteins) Blutproben entnommen werden und hierbei auffällig niedrige Blutzuckerwerte (30 und 57 mg%) festgestellt werden. Es liegt nahe, die beobachteten Krampfanfälle und vielleicht auch den Tod der Tiere mit der starken Herabsetzung des Blutzuckergehaltes in Verbindung zu bringen. Indessen gelang es nicht, dieses Versuchsergebnis zu reproduzieren. Dies könnte allerdings daran liegen, daß die für derartige Versuche benutzten Kaninchen

trotz Injektion höherer Brechweinsteindosen (11 und 12 mg/kg) später (nach etwa 36—48 Stunden) - in wenigen Fällen früher — starben, als die Tiere Nr. 10 und Nr. 14, so daß zwischen der letzten Blutentnahme und der Zeit des Todes eine verhältnisgroße Zeitspanne lag. Übrigens überlebten einige Kaninchen die intravenöse Injektion von 11 und 12 mg Brechweinstein pro kg Körpergewicht.

Die Tabelle 4 zeigt weiter, daß auch Fuadin in Dosen von 70—80 mg/kg Körpergewicht etwa 6—8 Stunden nach der intravenösen Injektion schwach blutzuckersenkend wirkt. Nach intravenöser Injektion von Neostibosan (100—200 mg/kg) war diese Wirkung nur angedeutet vorhanden.

Der Unterschied in der Wirkung von Arsen- und Antimonverbindungen auf den Nüchternblutzucker muß besonders überraschen, da frühere Untersuchungen ergeben hatten[1, 2], daß die verschiedenen daraufhin geprüften Verbindungen beider Metalloide die Wirkung von Insulin, Adrenalin oder von intravenös verabfolgtem Traubenzucker auf den Blutzucker im wesentlichen gleichartig beeinflussen.

Indessen bestehen doch gewisse Verschiedenheiten. So hatten wir bereits bei unseren früheren Versuchen den Eindruck, daß die Wirkung des Insulins bei mit Arsenik vergifteten Tieren nur eine gewisse Verzögerung erfährt, indem der Blutzucker nach der subcutanen Insulininjektion sehr viel langsamer — mitunter vielleicht auch weniger stark — abfällt als bei normalen Tieren. Bei mit Brechweinstein oder mit Fuadin vergifteten Tieren tritt jedoch häufig außerdem auch eine Verstärkung der Insulinwirkung ein. So starben bei unseren Versuchen mehrfach Kaninchen, die zunächst Brechweinstein (9—10 mg/kg*) oder Fuadin (70—75 mg/kg*) intravenös und 15—30 Minuten danach 0,25 Einheiten Insulin (Bayer) pro kg Körpergewicht subcutan erhalten hatten, 5—8 Stunden später unter starken Krämpfen, wobei die kurz vor dem Tode festgestellten Blutzuckerwerte sehr niedrig (29—37 mg%, in einem Falle 22 mg%) waren. Bei den entsprechenden Versuchen mit Arsenverbindungen ereigneten sich derartige Zwischenfälle nicht.

Weitere Versuche zeigten, daß die subcutane Injektion von 0,25 Einheiten Insulin pro kg Körpergewicht keine erkennbare Blutzuckersenkung herbeizuführen pflegt, wenn man die Insulininjektion erst längere Zeit (1—3 Stunden) nach der intravenösen Verabfolgung von 5—6 mg Arsenik pro kg Körpergewicht vornimmt. Man findet sogar bei diesen Versuchen, daß der nach der Arsenikgabe angestiegene Blutzucker trotz der Insulininjektion in den ersten Stunden noch weiter ansteigt. Injiziert man dagegen die gleiche Insulindosis 1—3 Stunden nach der intravenösen Injektion von Brechweinstein (9—10 mg/kg), so tritt die Blutzuckersenkung zunächst etwas langsamer ein, wird aber nach 4—6 Stunden oft so hochgradig, daß der Tod der Versuchstiere im hypoglykämischen Krampfanfall erfolgt.

* Diese Dosen werden von gesunden Kaninchen fast stets überlebt; in seltenen Fällen tritt der Tod 24—36 Stunden nach der Injektion ein.

Zum Vergleich sei erwähnt, daß die subcutane Injektion von 0,25 Einheiten unseres Insulinpräparates (Bayer) pro kg Körpergewicht bei gesunden Kaninchen, die 24 Stunden gehungert haben, den Blutzucker innerhalb von 2 Stunden von 85—108 mg% auf 45—65 mg% herabzusetzen pflegt. Bereits 4 Stunden — selten erst 5 oder 6 Stunden — nach der Insulingabe wird wieder ein normaler Blutzuckerwert erreicht.

Umgekehrt wie bei den Versuchen mit Insulin tritt bei den Versuchen mit Adrenalin die Wirkung des Arseniks stärker als die des Brechweinsteins oder anderer Antimonverbindungen hervor. So verlängert Brechweinstein die Adrenalinhyperglykämie erst in bereits toxischen Dosen deutlich, während Arsenik eine derartige Wirkung bereits in verhältnismäßig niedrigen Dosen hat.

In der Abb. 1 zeigt Kurve *A* den normalen Verlauf der Blutzuckerkurve nach der intravenösen Injektion von 0,02 mg Adrenalin pro kg Körpergewicht. Die Kurven *B* und *C* zeigen den Verlauf der Blutzuckerkurve, wenn 20 Minuten vor der gleichen Adrenalingabe 9 mg Brechweinstein (*B*) oder 1,5 mg Arsenik (*C*) pro kg Körpergewicht injiziert wurden.

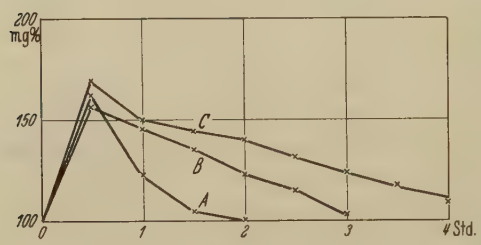


Abb. 1.

Die in der Abbildung wiedergegebenen Kurven stellen das Mittel aus mehreren (3—4) Versuchen dar.

Injiziert man 10—20 Minuten vor der Adrenalingabe 5 oder 6 mg Arsenik pro kg Körpergewicht intravenös, d. h. also Dosen, die hinsichtlich der Toxizität 9—10 mg Brechweinstein pro kg entsprechen würden, so sieht man häufig, daß der nach der Adrenalininjektion bereits wieder etwas absinkende Blutzucker plötzlich — 90—120 Minuten nach Versuchsbeginn — neuerlich stark ansteigt. Hierbei wurden dann oft noch sehr hohe Blutzuckerwerte (mehrere 100 mg%) erreicht. Trotzdem hat man nicht den Eindruck, daß Arsenik bei dieser Versuchsanordnung regelmäßiger derartig starke Erhöhungen des Blutzuckers herbeiführt als bei den in der Tabelle 1 wiedergegebenen Versuchen.

Bei einigen Versuchen, bei denen zunächst Brechweinstein in Dosen von 9 und 10 mg/kg Körpergewicht und danach 0,02 mg Adrenalin pro kg Gewicht intravenös injiziert und der Blutzucker 8 Stunden lang verfolgt wurde, zeigte sich zunächst der verlangsamte Abfall des durch Adrenalin erhöhten Blutzuckers wie in der Abb. 1; später (nach 6—7 Stunden) sank dann der Blutzucker auf leicht unternormale Werte (etwa 70 mg%).

Die geschilderten Untersuchungen haben also einige wesentliche Unterschiede in der Wirkung von Arsen und Antimon auf den Kohlehydratstoffwechsel ergeben. Indessen spricht die Feststellung, daß unter dem Einfluß der beiden Metalloide sowohl die durch Insulin bewirkte Blutzucker-

senkung als auch das Absinken des durch eine Traubenzuckergabe oder durch eine Adrenalininjektion erhöhten Blutzuckers zu normalen Werten verlangsamt erfolgt, dafür, daß Arsen und Antimon einen gemeinsamen Angriffspunkt besitzen und die Zuckeroxydation oder die Glykogensynthese hemmen. Dem Befund, daß Arsenik hierbei bereits in kleineren Dosen als Brechweinstein wirksam ist, entspricht die Feststellung, daß auch bei Fermentversuchen in vitro Brechweinstein eine deutlich schwächere Wirkung als Arsenik aufweist (vgl. z. B. Oelkers[10]).

Über die Ursachen dafür, daß Arsenik bei nüchternen Tieren eine Hyperglykämie, Brechweinstein dagegen eine Hypoglykämie herbeiführt, läßt sich vorerst nichts Sicheres sagen. Höchstwahrscheinlich spielen aber sowohl bei der „Arsenhyperglykämie" wie bei der „Antimonhypoglykämie" die trotz aller Ähnlichkeit doch verschiedenartigen Giftwirkungen der Metalloide auf die Leber eine Rolle: Schwerere morphologische Veränderungen zeigen sich hier bei mit Brechweinstein vergifteten Tieren gewöhnlich früher als bei mit Arsenik vergifteten. So finden sich etwa 48—72 Stunden nach intravenöser Verabfolgung toxischer Brechweinsteinmengen gewöhnlich ausgedehnte Leberzellnekrosen; daneben besteht eine meist nur sehr geringe Verfettung (Franz[11]). Zur gleichen Zeit bietet die Leber von mit Arsenik vergifteten Kaninchen häufig nur Zeichen schwerer Verfettung; Zellnekrosen finden sich oft erst am 5. oder 7. Tage.

Brechweinstein und ähnlich auch die anderen von uns geprüften Antimonverbindungen bewirken also rascher eintretende und wohl auch schwerere Schädigungen des Leberparenchyms als Arsenik. Möglicherweise beruht hierauf die verschiedenartige Wirkung der Arsen- und Antimonverbindungen auf den Nüchternblutzucker.

Zusammenfassung.

Es wurde gefunden, daß die intravenöse Injektion von Arsenik bei nüchternen Kaninchen zu einer u. U. sehr erheblichen Steigerung des Nüchternblutzuckers führt.

Die gleiche Wirkung, wenn auch sehr viel schwächer, haben Salvarsan und Arsacetin.

Antimonverbindungen (Brechweinstein, Fuadin, Neostibosan) erhöhen den Nüchternblutzucker nicht, sondern führen bei Injektion toxischer Dosen zu einer — meist leichten — Hypoglykämie.

Die Gründe für die verschiedene Wirkung von Arsen- und Antimonverbindungen werden erörtert.

[10] Oelkers, H.-A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 276 (1937). — [11] Franz, G.: Ebenda **186**, 661 (1937).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Gießen.
(Direktor: Prof. F. Hildebrandt.)

Über die Wirkung von Morphin, Pernocton, Evipan und Eunarcon auf den respiratorischen Gaswechsel des Kaninchens*.

Von

Elfriede Kreuder.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. September 1938.)

A. Fragestellung.

Morphin und die Barbitursäurederivate Pernocton, Eunarcon und Evipan sind in ihrer Wirkung auf Atmung, Kreislauf, Körpertemperatur, Säurebasengleichgewicht und korpuskuläre Elemente des Blutes, sowie in ihrer narkotischen Wirksamkeit bereits eingehend untersucht worden. Auch über ihre Wirkung auf Sauerstoffverbrauch und Kohlensäureausscheidung liegen einige Angaben vor.

Diese Wirkung in allen Einzelheiten über beliebig lange Zeit lückenlos zu verfolgen und die vorhandenen Ergebnisse zu ergänzen, war das Ziel der vorliegenden Untersuchung, die damit einer Fragestellung nachgeht, deren Lösung erst seit wenigen Jahren durch den Gaswechselschreiber nach H. Rein[1,2] mit großer Genauigkeit verhältnismäßig einfach und sehr übersichtlich überhaupt möglich geworden ist. Mit Hilfe der Reinschen Apparatur sind wir in der Lage, für jeden beliebigen Zeitpunkt oder Zeitabschnitt anzugeben, wie sich Atmung, Sauerstoffaufnahme und Kohlensäureausscheidung verhalten und gegenseitig beeinflussen, ob und wie weitgehend das durch die genannten Narkotica herabgesetzte Atemvolumen durch bessere Sauerstoffausnutzung der Lungenluft kompensiert wird, ob sich das Verhältnis zwischen Kohlensäureabgabe und Sauerstoffaufnahme, der respiratorische Momentanquotient (Rein), konstant hält oder verschiebt, und schließlich, wie lange und wie stark das Atemzentrum in seiner Erregbarkeit beeinträchtigt wird.

B. Methodik.

Als Versuchstiere wurden Kaninchen mit einem durchschnittlichen Gewicht von 2000—4000 g benutzt, die in zahlreichen Vorversuchen daran gewöhnt worden waren, ohne Erregung in einem ihrer Größe entsprechenden Kasten, der den Kopf

* D 26.

[1] Rein, H.: Handb. biol. Arbeitsmeth., Abt. IV, Teil 13, 795 (1937). — [2] Rein, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **171**, 363 (1933).

freiläßt, zu sitzen und durch eine Atemmaske zu atmen. Sie entnahmen ihre Inspirationsluft einem Kroghschen Spirometer von 5 Liter Fassungsvermögen durch ein Kroghsches Ventil. Die Exspirationsluft wurde durch ein zweites Ventil dem Mischgefäß des Gaswechselschreibers zugeführt. Eine Kontaktuhr öffnete alle 60 Sekunden das Einlaßventil des Spirometers. Somit konnte die Atemvolumenschreibung zugleich als Zeitschreibung dienen. Eine kleine Abweichung von der von Rein angegebenen Art der elektrischen Registrierung des Atemvolumens[2] sei an dieser Stelle erwähnt: Die durch das Sinken des Spirometerkastens gegebene Höhendifferenz wurde nicht zur Erzeugung eines Induktionsstromes benutzt, sondern ein dünner etwa 40 cm langer Konstantandraht wurde am Spirometer befestigt, an beiden Enden mit einem Akkumulator verbunden und über eine Rolle an einer steifen Messingschneide als Schleifkontakt vorbeigeführt. Durch das Auf- und Abgehen des Spirometerkastens ändert sich das Verhältnis der oberen Drahtstrecke — oberes Drahtende bis Schleifkontakt — zur unteren Drahtstrecke — Schleifkontakt bis unteres Drahtende — und damit das Verhältnis der Widerstände beider Strecken. Diese Widerstandsänderungen wurden über eine Wheatstonesche Brückenschaltung auf ein Spiegelgalvanometer übertragen. Wie aus den Atemvolumeneichkurven zu ersehen ist, ergeben diese Widerstandsänderungen lineare Ausschläge.

Für unsere Untersuchungen am Gaswechselschreiber wurde ausschließlich die fortlaufende Analyse der Exspirationsluft verwendet. Je nach Wahl des Mittels dauerten die Versuche 1—4 Stunden. Während der ersten 30 Minuten nach der Injektion, in denen kurzfristige Änderungen des Gaswechsels zu erwarten waren, wurde ohne Pause registriert, später in Abständen von 10—60 Minuten für die Dauer von 5—10 Minuten. In den Versuchspausen blieben die Kaninchen im Kasten sitzen ohne gefüttert zu werden. Dadurch wurde eine gewisse Konstanz der Wärme- und Stoffwechselverhältnisse gewährleistet.

Von der Analyse der Frischluft ausgehend (Frischluftnullinie) wurde zunächst über mehrere Minuten der normale Gaswechsel registriert. Aus der Verarmung der Exspirationsluft an Sauerstoff und dem Atemvolumen in der Zeiteinheit ergibt sich der normale Sauerstoffverbrauch, aus der Anreicherung der Exspirationsluft an Kohlensäure und dem Atemvolumen in der Zeiteinheit die normale Kohlensäureausscheidung. Eine kurzdauernde Unterbrechung der optischen Registrierung kennzeichnet das Ende der Injektion, die, wenn sie intravenös stattfand, jeweils eine Minute dauerte. In einer Versuchspause oder nach Beendigung des Versuchs wurde der Gaswechselschreiber mit einem Eichgemisch beschickt und außerdem eine Atemvolumeneichkurve geschrieben.

Bei der Ablesung des Atemvolumens galt es, die durch das Öffnen des Spirometerventils, sowie die durch die Elastizität des Systems bedingten Unregelmäßigkeiten der Registrierung bei der Umkehr der Bewegung der Spirometerhaube am Ende jeder Minute auszuschalten. Zu diesem Zweck wurde das Atemvolumen für die ganze Minute jeweils mit dem doppelten Wert aus dem 2. und 3. Viertel jeder Minute berechnet. Es ist zu beachten, daß bei kleinem Atemvolumen die Kontaktuhr gelegentlich nur in Abständen von zwei statt einer Minute schaltete (siehe Abb. 1, 3, 5).

Latenz- und Mischzeit der Analysenapparatur wurden empirisch mit 26,5 sec festgestellt. Daher sind die zeitlich zu einem bestimmten Punkte der Atemvolumenkurve gehörigen Punkte der O_2- und CO_2-Kurve um die Strecke x (siehe Abb. 1) zurück, d. h. nach links, verschoben zu denken.

Die errechneten Ergebnisse der Originalkurven wurden als Diagramme gezeichnet. Die unterste ausgezogene Kurve der Diagramme stellt das Atemvolumen in ccm/min dar. Das mittlere Kurvenpaar gibt den Sauerstoff- und Kohlendioxydgehalt der Exspirationsluft in Volumenprozent an: die ausgezogene Kurve bedeutet die Sauerstoffverarmung ($-\%$ O_2), die gestrichelte Kurve die Kohlensäure-

anreicherung (+ % CO_2) der Lungenluft im Vergleich zur Frischluft mit ihrem Gehalt von 21% O_2 und 0,03% CO_2. Aus dem Verhältnis der + % CO_2 zu den — % O_2 errechnet sich der respiratirische Momentanquotient (RMQ), der ein Maß für die im Blut vorhandene O_2- bzw. CO_2-Spannung darstellt[3]. Das oberste Kurvenpaar der Diagramme stellt den Sauerstoffverbrauch (ausgezogene Linie) und die Kohlensäureausscheidung (gestrichelte Linie) pro Kilogramm und Minute dar, umgerechnet in Prozent des normalen Ausgangswertes, dessen Absolutwerte am gemeinsamen Beginn der Kurven vermerkt sind.

C. Ergebnisse.

In vier Versuchsreihen an im ganzen 29 Kaninchen wurde das Verhalten des respiratorischen Gaswechsels unter der Wirkung von Morphin, Pernocton, Evipan und Eunarcon beobachtet. Es ergaben sich neben gewissen Übereinstimmungen ganz charakteristische Merkmale für die Wirkung jedes der vier Pharmaca, die durch die Betrachtung der folgenden Originalkurven, Diagramme und Tabellen veranschaulicht werden sollen.

1. Versuchsreihe: Morphin.

Von den zahlreichen Wirkungen des Morphins auf den tierischen Organismus[4] seien diejenigen kurz erwähnt, die für die vorliegenden Untersuchungen von Interesse sind:

Im akuten Versuch wirkt Morphin nicht oder nur in ganz geringem Maße auf Herz und Gefäße ein. Der respiratorische Gaswechsel wird herabgesetzt, im allgemeinen die CO_2-Ausscheidung stärker als der O_2-Verbrauch. Die Wärmeproduktion wird eingeschränkt, ebenso die Motilität. Über die Wirkung auf das Säure-Basengleichgewicht des Blutes sind die Ansichten geteilt. Die Erregbarkeit des Atemzentrums wird durch mittlere Dosen bei allen Tieren, die nicht mit Erregung reagieren, also auch beim Kaninchen, herabgesetzt. Nach den Angaben von Grüninger[5] und Wright und Barbour[6] sinkt die Erregbarkeit des Atemzentrums unter Morphin jedoch keineswegs proportional zur angewandten Dosis. Kleine Dosen erregen das Atemzentrum. Für mittlere Dosen gibt Grüninger an, daß 3 mg/kg Morphin i. v. das Atemvolumen bereits um 50% herabsetzen, 10—18 mg/kg bewirken eine Herabsetzung von 68—70%, unter noch höheren Dosen werden nicht selten Erregungszustände der Kaninchen mit erhöhtem Atemvolumen gesehen. 10—18 mg/kg stellen somit die Dosis dar, die eine möglichst starke Herabsetzung des Atemvolumens bedingt, ohne daß Anzeichen einer sonstigen zentralen Funktionsstörung auftreten. Wir verwandten die Dosis von 10 mg/kg, die eine starke Herabsetzung des Atemvolumens, dabei aber keine Narkose, sondern nur Schläfrigkeit und starke Einschränkung der Motilität bewirkt. Für die Injektion wurde eine 2%ige Lösung von Morphinum hydrochloricum

[3] Rein, H.: Physiol. d. Menschen, 118, Springer 1936. — [4] Handb. exper. Pharm. II 2, 853. — [5] Grüninger, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **126**, 77 (1927). — [6] Wright and Barbour: J. Pharmacol. (Am.) **53**, 34 (1935).

benutzt, bei 7 Tieren wurde sie intravenös, bei 1 Tier subcutan gegeben. Am Ende des vierstündigen Versuches waren die Tiere ohne Ausnahme noch schläfrig, einige leicht ataktisch, sie fraßen nicht.

Die Originalkurve (Abb. 1) beginnt mit der Frischluftnullinie (Fr.L.N.L.), dann folgt die Registrierung des normalen Gaswechsels. Bereits während der letzten Sekunden der intravenösen Injektion wird das Atemvolumen stark eingeschränkt, erkennbar an dem flacheren Anstieg der AV-Kurve. Ebenfalls bereits während der Injektion (siehe Methodik) steigen die $-\%\,O_2$ der Lungenluft an, während die $+\%\,CO_2$ zunächst ein wenig absinken, am Ende der Injektion den Normalwert wieder erreichen, dann ebenfalls ansteigen, wenn auch langsamer als die $-\%\,O_2$. Nach 40 Minuten ist das AV wieder deutlich angestiegen, die $+\%\,CO_2$ sind im Vergleich zur 5. Minute nach der Injektion noch um ein geringes erhöht, während die $-\%\,O_2$ schon wieder stark abgesunken sind. 120 Minuten nach der Injektion ist ein weiterer Anstieg des AV und ein deutliches Absinken der $-\%\,O_2$ und der $+\%\,CO_2$ erkennbar. Nach 180 Minuten ist wiederum das AV angestiegen, um nach 240 Minuten etwas niedrigere Werte bei gleichzeitigem Neuanstieg der $-\%\,O_2$ und der $+\%\,CO_2$ zu zeigen.

Das Diagramm (Abb. 2) stellt die Ergebnisse der Originalkurve übersichtlich dar. Das AV — unterste Kurve — zeigt nach anfänglich starkem Abfall zunächst einen langsamen, von der 90. Minute nach der Injektion an einen schnelleren Anstieg, erreicht jedoch nach 240 Minuten den Ausgangswert noch nicht. Die $-\%\,O_2$

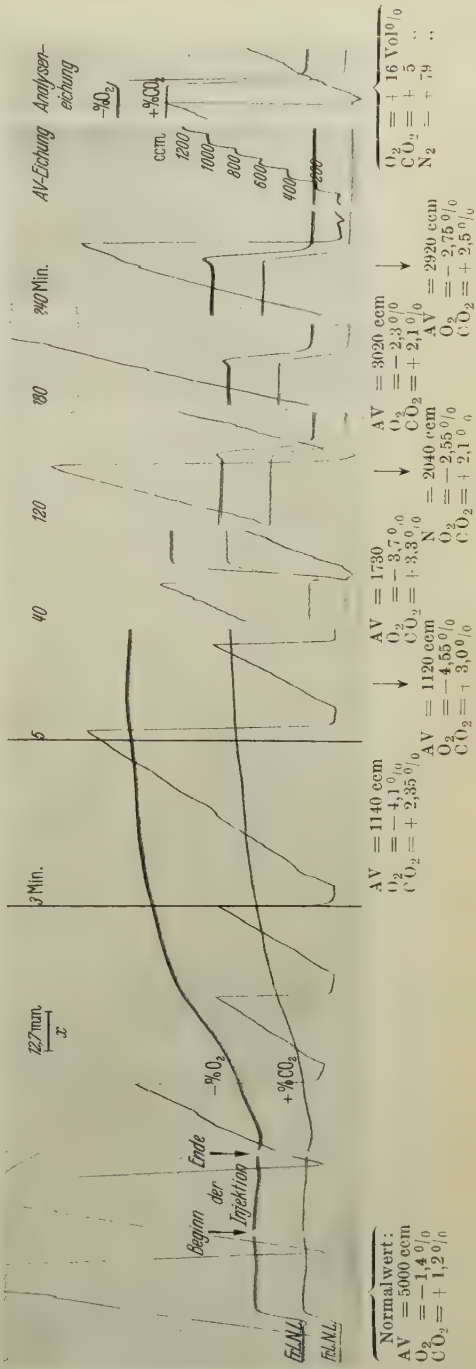


Abb. 1. 17. V. 1938. Kaninchen 20, 2600 g. 10 mg/kg Morph. hydrochl. i. v. in 60".

und die + % CO_2 der Lungenluft – mittleres Kurvenpaar — steigen anfänglich sehr stark an, sinken dann langsam wieder ab, entsprechend der Zunahme des AV. Am Versuchsende liegen beide Werte noch höher als am Versuchsbeginn. Das oberste Kurvenpaar, das den Gaswechsel in ccm in der Zeiteinheit als % des Normalwertes darstellt, läßt erkennen, daß es während der ersten 40 Minuten nach der Injektion neben einer starken Einschränkung des Sauerstoffverbrauches zu einer CO_2-Retention kommt, d. h. die CO_2-Ausscheidung bleibt hinter der Sauerstoffaufnahme zurück, der RMQ wird kleiner. Die Ursache für diese CO_2-Retention ist in einer Erhöhung der Alkalireserve zu sehen (siehe Besprechung der Ergebnisse). Mit dem langsamen Wiederanstieg des AV findet von der 40. bis zur 90. Minute eine geringe CO_2-Ausschwemmung statt. Der starke Anstieg des AV nach der 90. Minute zeigt das Flacherwerden der Morphinwirkung an, dem ein stärkerer O_2-Verbrauch

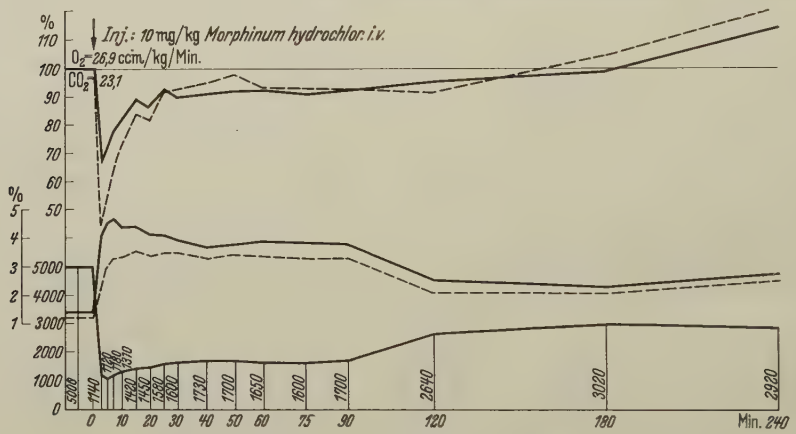


Abb. 2. 17. V. 1938. Kaninchen 20. 2600 g.

parallel geht. Von der 180. Minute an findet sogar im Vergleich zum Normalwert ein Mehrverbrauch von O_2 statt, ein Befund, der nicht die Regel darstellt und deshalb nicht im Sinne einer Kompensation des vorher eingeschränkten O_2-Verbrauches gedeutet werden kann. Zugleich kommt es nochmals zu einer CO_2-Ausschwemmung, die ihre einfachste Erklärung in dem Wiederabsinken der vorher erhöhten Alkalireserve bei ansteigendem AV findet.

Von quantitativen Unterschieden abgesehen, ergibt sich bei allen Morphinversuchen das gleiche Bild. Ihre Ergebnisse sind in Tabelle 1 wiedergegeben. In Versuch I—VII wurde das Morphin intravenös verabreicht, in Versuch VIII subcutan. Dieser Versuch unterscheidet sich lediglich dadurch von den übrigen, daß die Einschränkung des AV langsamer zustande kommt. Dementsprechend fehlt die starke Depression des Gaswechsels während der ersten Minuten nach der Injektion. Im übrigen

wird der Gaswechsel ganz in gleichem Sinne wie bei intravenöser Injektion beeinflußt und bedarf keiner gesonderten Besprechung.

Zusammenfassend lassen sich folgende Durchschnittsergebnisse feststellen: Das Atemvolumen wird durch Morphin erheblich eingeschränkt. So beträgt es 50 Minuten nach der Injektion nur 34% seines Ausgangswertes. Auch der O_2-Verbrauch wird geringer. Er ist in der 30. Minute nach der Injektion um 18,6%, in der 40. Minute um 17, 7%, in der 50. Minute (s. Tab. 1) um 15,2%, in der 60. Minute ebenfalls um 15,2% seines normalen Ausgangswertes herabgesetzt. Obwohl bei Versuchsende das AV noch um 50% des Ausgangswertes eingeschränkt ist, hat der O_2-Verbrauch mit 100,2% den Normalwert erreicht, das verminderte AV wird durch den Anstieg der -% O_2 weitgehend bzw. vollständig kompensiert. In den Versuchen I–VI kommt es nach anfänglicher CO_2-Retention im weiteren Verlauf zu einer CO_2-Ausschüttung. In den Versuchen VII und VIII fehlt die CO_2-Ausschüttung, in Versuch VIII tritt die CO_2-Retention infolge der durch die subcutane Injektion nur allmählichen Einschränkung des AV verspätet ein. Für die folgende Betrachtung der Pernoctonversuche ist es wichtig festzustellen, daß der O_2-Verbrauch unter Morphin nach zunächst starker Einschränkung während des ganzen Versuchsverlaufes langsam aber stetig ansteigt, um, wie gesagt, nach 4 Stunden den normalen Ausgangswert zu erreichen.

2. Versuchsreihe: Pernocton.

Nach Angabe von Lendle[7] bestehen für Pernocton zwischen Größe der Dosis und Herabsetzung des AV lineare Beziehungen. Von den übrigen Wirkungen des Pernoctons ist folgendes bemerkenswert[8]: Geringe bis mittlere Dosen bewirken Schlaf bzw. Narkose, letale Dosen führen zu Atemlähmung und Kreislaufkollaps. Die Wirkung tritt schnell ein. Das AV wird stärker reduziert als im natürlichen Schlaf, zuweilen soll es zu Erregungszuständen kommen, die wir jedoch in unseren Versuchen nicht beobachteten. Die Wirkung auf den Kreislauf ist gering, bei vorsichtiger intravenöser Injektion kommt es nur zu einem geringen Blutdruckabfall. Bereits kleine Gaben lähmen die glatte Muskulatur. Über die Wirkung des Pernoctons auf den respiratorischen Gaswechsel liegen keine Angaben vor.

7 Kaninchen erhielten 25 mg/kg intravenös während 1 Minute, 2 Kaninchen 50 mg/kg subcutan. Beide Dosen verursachten einen Schlaf von 60–90 Minuten. Die Versuche dauerten 4 Stunden, bereits gegen Ende der 2. Stunde waren die Tiere ohne Ausnahme wach, verhielten sich aber durchweg ruhig bis zum Versuchsende.

Die Originalkurve (Abb. 3) beginnt mit der Fr.L.N.L. Dann folgt die Schreibung des normalen Gaswechsels. Die Unterbrechung der optischen

---

[7] L. Lendle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **144**, 78 (1929). — [8] Handb. exper. Pharm., Erg. Werk II. Band, S. 144.

Tabelle 1

Morph. hydr. 10 mg/kg I—VII: i. v. VIII: s. c.	Atemvolumen in ccm/Min.			O_2-Verarmung der Lungenluft in Volumprozent ($-\%_0$ O_2)			O_2-Verbrauch in % des Normalwertes		Verhalten der CO_2-Ausscheidung im Vergleich zum O_2-Verbrauch (nach der Injektion)	
	vor der Injektion	50 Min. nach der Injektion	240 Min. nach der Injektion	vor der Injektion	50 Min. nach der Injektion	240 Min. nach der Injektion	50 Min. nach der Injektion	240 Min. nach der Injektion	Retention Min.–Min.	Ausschüttung Min.—Min.
Mo. I i. v. 17. V. 1938 Kan. 20 2600 g	5000	1700	2920	1,4	3,8	2,75	92,3	114,7	1.—25.	25.— 60. 150.—240.
Mo. II i. v. 1. III. 1938 Kan. 16 4000 g	950	355	560	2,9	6,25	5,0	80,5	101,6	1.—19.	19.—190.
Mo. III i. v. 21. II. 1938 Kan. 15 3900 g	980	420	420	1,8	3,8	4,4	90,5	104,8	1.—15.	15.—180.
Mo. IV i. v. 3. III. 1938 Kan. 15 4000 g	1300	450	670	2,2	4,6	3,7	72,4	86,7	1.— 20.	20.—170.
Mo. V i. v. 28. II. 1938 Kan. 1 2300 g	770	400	610	2,2	3,75	2,5	88,5	90,0	1.—70.	100.—240.
Mo. VI i. v. 4. III. 1838 Kan. 16 4200 g	1100	250	330	1,6	6,15	6,0	87.4	112,5	1.—38.	38.— 60.
Mo. VII i. v. 16. V. 1938 Kan. 4 2200 g	2200	880	1300	2,5	5,0	4,05	80,0	95,7	1.—75.	
Mo. VIII s. c. 30. IV. 1938 Kan. 11 2300 g	2080	370	420	1,25	6,1	5,9	86,8	95,3	8.—60.	

Registrierung bezeichnet das Ende der Injektion. Die Einschränkung des AV erfolgt wenig später als unter Morphin, nämlich in der 2. Minute nach der Injektion. Gleichzeitig steigen die $-\%\ O_2$ und die $+\%\ CO_2$ an, wobei auch hier der Anstieg der $+\%\ CO_2$ zunächst hinter dem Anstieg der $-\%\ O_2$ zurückbleibt. 60 Minuten nach der Injektion ist das AV noch etwa das gleiche wie 5 Minuten nach der Injektion, $-\%\ O_2$ und $+\%\ CO_2$ liegen erheblich höher als in der Norm. Nach 120 Minuten sind beide bei gleichbleibendem AV etwas abgesunken, ein weiteres Absinken ist bei steigendem AV in der 180. und 240. Minute deutlich.

Das Diagramm (Abb. 4) zeigt, daß das AV erst 15 Minuten nach der Injektion seinen Tiefpunkt erreicht, dann sehr langsam ansteigt, um am Versuchsende nahezu am Ausgangswert anzukommen. Wie unter Morphin steigen die $-\%\ O_2$ und die $+\%\ CO_2$ — mittleres Kurvenpaar — nach der Injektion an, um gegen Versuchsende zu den Ausgangswerten zurückzukehren. Der O_2-Verbrauch und die CO_2-Ausscheidung — oberstes Kurvenpaar — zeigen zunächst das gleiche Verhalten wie unter Morphin: starke Herabsetzung des respiratorischen Gaswechsels mit CO_2-Retention während der ersten 30 Minuten. Dieser Depression folgt ein Anstieg des Gaswechsels, bis in der 60. Minute nach der Injektion mit 94% O_2-Verbrauch und 95% CO_2-Ausscheidung die Normalwerte nahezu erreicht sind. Während jedoch unter Morphin der Anstieg bis zum Versuchsende kontinuierlich weitergeht, kommt es bei intravenöser Injektion von Pernocton zu einer erneuten Herabsetzung des O_2-

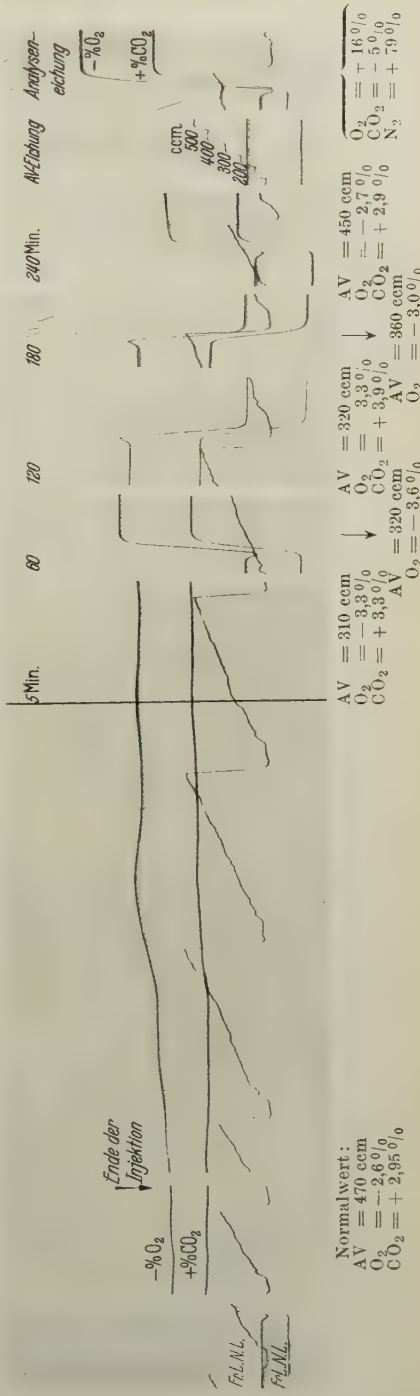


Abb. 3. 16. IV. 1938. Kaninchen 5, 2300 g. 25 mg/kg Pernocton i. v. in 60″.

Verbrauches, der erst von der 120. Minute ab ein zunächst langsamer, dann schnellerer Anstieg bis zum Normalwert folgt. Übereinstimmend mit den Ergebnissen der Morphinversuche ist die CO_2-Ausschwemmung nach der 60. Minute. Alle Versuche, in denen Pernocton intravenös gegeben wurde, haben grundsätzlich das gleiche Ergebnis, während bei subcutaner Applikation von 50 mg/kg der erneute Abfall des O_2-Verbrauches einmal nur angedeutet und einmal gar nicht vorhanden war. Hierauf wird noch zurückzukommen sein.

Tabelle 2 gibt die Ergebnisse der Pernoctonversuche wieder. In den Versuchen I bis VII wurde intravenös, in den Versuchen VIII und IX subcutan injiziert, Versuch VIII wurde aus technischen Gründen vorzeitig abgebrochen.

Es ergibt sich, daß Pernocton das Atemvolumen erheblich und den O_2-Verbrauch in weit geringerem Maße herabsetzt. Während das Atem-

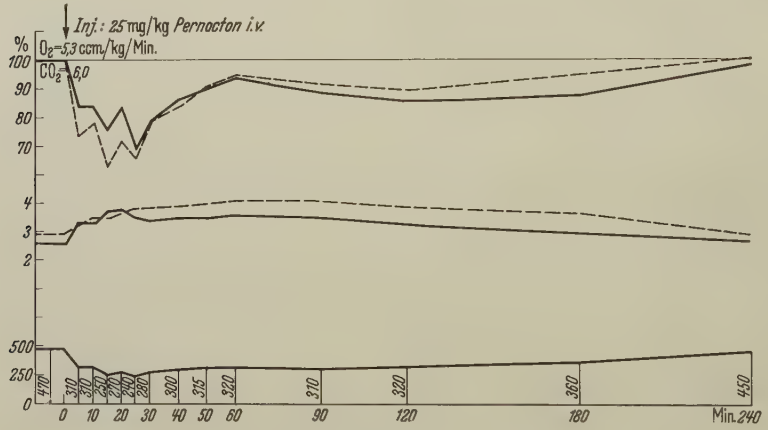


Abb. 4. 16. III. 1938. Kaninchen 5. 2300 g.

volumen in der 50. Minute nach der Injektion um durchschnittlich 44 % seines Normalwertes reduziert war, wurde zur gleichen Zeit der O_2-Verbrauch um 10,2 % eingeschränkt (siehe Tabelle 2). In der 30. Minute betrug diese Einschränkung durchschnittlich 11,2 %, in der 40. Minute 9,7 % und in der 60. Minute 11,3 %. Die vergleichende Betrachtung der entsprechenden Ergebnisse der Morphinversuche zeigt, daß Pernocton eine geringere Herabsetzung des O_2-Verbrauches verursacht als Morphin.

240 Minuten nach der Injektion hat das AV mit durchschnittlich 80 % den Ausgangswert noch nicht erreicht, während der O_2-Verbrauch im Durchschnitt 101,1 % beträgt. Die beiden letzten Spalten der Tabelle zeigen, daß es bei intravenöser Injektion ausnahmslos zu einer mehr oder weniger starken Abnahme des O_2-Verbrauches während mindestens 35 Mi-

Tabelle 2.

Pernocton I—VII 25 mg/kg i. v. VIII und IX 50 mg/kg s. c.	Atemvolumen in ccm Min.			O_2-Verarmung der Lungenluft in Volumprozent ($-$% O_2)			O_2-Verbrauch in % des Normalwertes		Rückgang des O_2-Verbrauches gegen Ende bzw. nach der Narkose	
	vor der Injektion	50 Min. nach der Injektion	240 Min. nach der Injektion	vor der Injektion	50 Min. nach der Injektion	240 Min. nach der Injektion	50 Min. nach der Injektion	240 Min. nach der Injektion	Min. Min. nach der Injektion	%—% des Normalwertes
P. I i. v. 16. III. 1938 Kan. 5 2300 g	470	315	450	2,6	3,5	2,7	90,2	99,4	60.—120.	94—86
P. II i. v. 8. III. 1938 Kan. 18 2200 g	620	350	700	2,7	4,5	2,9	94,1	121,3	60.—120.	98—82
P. III i. v. 9. V. 1938 Kan. 13 2200 g	1400	520	1020	2,3	5,35	3,8	86,4	120,4	30. - 150.	95—82
P. IV i. v. 10. V. 1938 Kan. 5 3000 g	4200	1960	3120	1,3	2,7	1,75	96,9	100,0	40.— 75.	106—85
P. V i. v. 4. V. 1938 Kan. 10 2500 g	1600	710	980	1,95	3,8	2,85	86,5	89,5	75.—120.	86—74
P. VI i. v. 11. III. 1938 Kan. 3 2300 g	480	240	480	2,9	4,8	2,9	82,8	100,0	45.— 90.	82—72
P. VII i. v. 6. V. 1938 Kan. 3 2600 g	1540	1100	1500	3,0	3,3	2,45	78,6	79,6	40.— 90.	85 - 67
P. VIII s. c. 12. V. 1938 Kan. 12 2300 g	2190	1280		2,4	4,0		97,4			
P. IX s. c. 19. V. 1938 Kan. 42 2800 g	2600	1910	2070	2,55	3,3	3,15	95,1	98,4		

nuten kommt, und das zu einer Zeit, in der die Tiere erwachen und eine Zunahme oder doch ein Gleichbleiben des O_2-Verbrauches zu erwarten wäre.

3. Versuchsreihe: Evipan und Eunarcon.

In einer 3. Reihe wurden die Barbitursäurederivate Evipan und Eunarcon untersucht. Ihre Wirkung stimmt zum Teil mit der des Pernoctons überein: Unter therapeutischen Dosen wird das AV eingeschränkt, letale Dosen führen zu Atemlähmung und Kreislaufkollaps. Die Wirkung tritt sofort ein, ist jedoch von kurzer Dauer, da der Abbau schnell vor sich geht [9]. Erregungszustände während der Narkose sind häufig. Im Gegensatz zu Pernocton jedoch wird, wie Herrel[10] nachgewiesen hat, der Blutdruck bereits durch kleine Dosen erheblich herabgesetzt, und zwar infolge Vasodilatation im Bereich der Haut und der Extremitäten, während sich die Gefäße des Splanchnicusgebietes kompensatorisch kontrahieren [8].

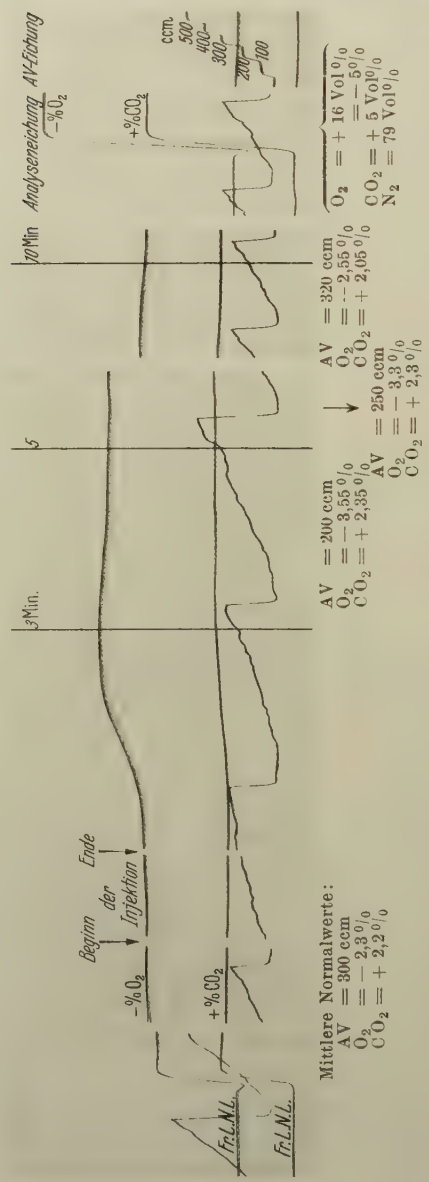


Abb. 5. 23. III. 1938. Kaninchen 18, 2200 g. 25 mg/kg Evipan — Na i. v. in 60″.

Die Originalkurve (Abb. 5) zeigt, daß die AV-Kurve bereits während der Injektion wesentlich flacher ansteigt als in der Norm, das AV wird kleiner (2-Minutenschaltung!). Sofort nach beendeter Injektion

7 Kaninchen erhielten 25 mg/kg Evipan-Natrium in 10 %iger Lösung, 5 Kaninchen 25 mg/kg Eunarcon, beides intravenös während 1 Minute. Unter Evipan hielt die Narkose etwa 15 Minuten, unter Eunarcon etwa 10 Minuten an. Die Versuche dauerten 1 Stunde. Einige Versuche, in denen die Tiere erregt waren, sind von der folgenden Besprechung ausgeschlossen.

[9] H. Weese: Klin. Wschr. 1937, II, 1297. — [10] M. F. Herrel: Dissertation, Gießen 1937.

steigen die $-\%$ O_2 an, in geringerem Maße und etwas später auch die $+\%$ CO_2. Schon in der 5. Minute nach der Injektion vergrößert sich das AV wieder, um nach 10 Minuten den normalen Wert zu erreichen. Gleichzeitig sinken die $-\%$ O_2 deutlich, die $+\%$ CO_2 sehr langsam wieder ab.

Von kleinen zeitlichen und quantitativen Unterschieden abgesehen, wirkt Eunarcon ganz entsprechend auf den respiratorischen Gaswechsel ein. Deshalb sei im folgenden die Besprechung eines Eunarcondiagramms angefügt.

Das Diagramm (Abb. 6) läßt erkennen, daß das im Anschluß an die Injektion reduzierte AV im Gegensatz zu den Ergebnissen der Versuchsreihen mit Morphin und Pernocton durch den Anstieg der $-\%$ O_2 und der $+\%$ CO_2 überkompensiert wird und nicht zu einer Depression des Gaswechsels führt. Es kommt zu einer erheblichen Steigerung des Sauerstoffverbrauches während der ersten Minuten. Auch die CO_2-Ausscheidung überschreitet ein wenig den Normalwert. Immerhin findet also auch hier eine CO_2-Retention statt. Nach dem Erwachen des Tieres nach der 10. Minute kommt es im vorliegenden Versuch zu einer geringen Einschränkung des O_2-Verbrauches während einiger Minuten, die wohl als eine Folge des vorausgegangenen O_2-Mehrverbrauches gedeutet werden kann. Sie stellt kein konstantes Ergebnis dar, in einigen Versuchen schwankt der O_2-Verbrauch nach beendeter Narkose mehr oder weniger stark um den Normalwert, entsprechend einer deutlichen Schreckhaftigkeit und motorischen Unruhe der betreffenden Tiere. Mit großer Regelmäßigkeit tritt in der zweiten Hälfte des Versuches eine erhebliche CO_2-Ausschüttung ein, die in Abb. 6 deutlich erkennbar ist.

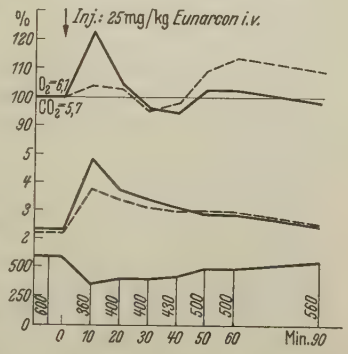


Abb. 6. 1. IV. 1938. Kaninchen 3. 2300 g.

Die Tabellen 3 und 4 geben das Verhalten des Sauerstoffverbrauches während der ersten 10 Minuten nach der Injektion von Evipan bzw. Eunarcon im Überblick wieder. Deutlich ist der schnelle Wiederanstieg des AV, es beträgt unter Evipan in der 5. Minute durchschnittlich 55 %, in der 10. Minute bereits 63 %, unter Eunarcon in der 5. Minute 58 %, in der 10. Minute 62 % seines Normalwertes. Damit können wir die Angaben von Herrel bestätigen, der dem Eunarcon nahezu die gleiche Wirkung aufs Atemzentrum des Kaninchens zuschreibt wie dem Evipan. Stets kommt es innerhalb der ersten 10 Minuten trotz Einschränkung von Motilität und AV zu einem mehr oder weniger ausgeprägten O_2-Mehrverbrauch, der einige Minuten lang bestehen bleibt und in 4 von 12 Fällen bereits in der 10. Minute einem O_2-Minderverbrauch Platz macht. Von einer Darstellung des weiteren Versuchsverlaufes wurde abgesehen, da

Tabelle 3.

Evipan-Natrium 25 mg/kg intravenös	Atemvolumen in ccm/Min.			O_2-Verarmung der Lungenluft in Volumprozent ($-\%$ O_2)			O_2-Verbrauch in % des Normalwertes	
	vor der Injektion	5 Min. nach der Injektion	10 Min. nach der Injektion	vor der Injektion	5 Min. nach der Injektion	10 Min. nach der Injektion	5 Min. nach der Injektion	10 Min. nach der Injektion
Ev. I 23. III. 1938 Kan. 18 2200 g	300	250	320	2,3	3,3	2,55	119,6	118,3
Ev. II 23. III. 1938 Kan. 3 2300 g	410	260	320	2,5	4,7	3,3	119,2	103,0
Ev. III 29. V. 1938 Kan. 16 2400 g	1200	590	840	2,0	4,75	3,1	116,7	108,5
Ev. IV 29. IV. 1938 Kan. 16 2400 g	2260	1200	1150	1,55	3,25	2,9	111,3	95,2
Ev. V 17. III. 1938 Kan. 17 2000 g	860	420	540	2,1	4,85	3,2	112,0	95,7
Ev. VI 7. III. 1938 Kan. 4 2300 g	640	410	420	3,0	4,8	3,9	102,5	85,3
Ev. VII 7. III. 1938 Kan. 4 2300 g	550	280	300	3,1	6,0	6,0	98,5	105,5

Tabelle 4.

Eunarcon 25 mg/kg intravenös	Atemvolumen in ccm/Min.			O_2-Verarmung der Lungenluft in Volumprozent ($-\%$ O_2)			O_2-Verbrauch in % des Normalwertes	
	vor der Injektion	5 Min. nach der Injektion	10 Min. nach der Injektion	vor der Injektion	5 Min. nach der Injektion	10 Min. nach der Injektion	5 Min. nach der Injektion	10 Min. nach der Injektion
Eu. I 1. IV. 1938 Kan. 3 2300 g	600	360	400	2,35	4,8	3,7	122,6	105,0
Eu. II 24. III. 1938 Kan. 5 2400 g	700	360	400	1,8	4,6	3,4	129,8	106,4
Eu. III 1. IV. 1938 Kan. 4 2200 g	400	300	310	2,9	4,6	4,1	119,0	109,6
Eu. IV 21. III. 1938 Kan. 3 2300 g	680	290	305	2,1	5,6	4,7	113,7	100,4
Eu. V 24. III. 1938 Kan. 4 2300 g	490	370	440	3,2	4,85	3,5	114,5	98,2

der O_2-Verbrauch, wie bereits erwähnt, infolge Unruhe der Tiere in einigen Fällen ganz unregelmäßige Schwankungen zeigt. Auf das konstante Verhalten der CO_2-Ausscheidung — Retention während der 1. Minute nach der Injektion, Ausschwemmung im weiteren Verlauf — wurde bereits hingewiesen.

D. Besprechung der Versuchsergebnisse.

10 mg/kg Morphinum hydrochloricum intravenös oder subcutan bewirken beim Kaninchen eine starke Einschränkung der Motilität und des AV von wenigstens 4 Stunden. Das AV ist in der zweiten Hälfte der 1. Stunde nach der Injektion um durchschnittlich 66 %, nach 4 Stunden um 50 % verringert. 25 mg/kg Pernocton intravenös oder 50 mg/kg Pernocton subcutan bewirken einen tiefen Schlaf, der mindestens 60 Minuten dauert, und ebenfalls eine Herabsetzung des AV für mehrere Stunden. Diese Herabsetzung beträgt 50 Minuten nach der Injektion durchschnittlich 44 %, 4 Stunden nach der Injektion 20 %. Bei subcutaner Injektion wird bei beiden Mitteln das AV langsam beeinflußt, während die intravenöse Injektion zu einem plötzlichen Absinken des AV innerhalb der 1. Minuten nach der Injektion führt. Gleichzeitig kommt es sofort nach der intravenösen Injektion zu einer starken Depression des respiratorischen Gaswechsels, die einige Minuten anhält, und die die O_2-Aufnahme und die CO_2-Ausscheidung nicht in gleichem Maße betrifft: Der respiratorische Momentanquotient steigt ohne Ausnahme an, d. h. es kommt zu einer CO_2-Retention im Organismus. Diese Retention macht sich bereits in der 1. Minute nach der Injektion, ja sogar schon unter der Injektion bemerkbar. Sie kann daher u. E. nicht als durch das Auftreten fixer Säuren bedingt gedeutet werden, da die Bildung fixer Säuren an O_2-Mangel im intermediären Stoffwechsel gebunden ist. Von einem solchen kann beim normalen Tier in der 1. Minute, in der die Erregbarkeit des Atemzentrums geringer wird, keine Rede sein. Würde es sich um einen reinen Ventilationseffekt handeln, dann müßte der RMQ gleichbleiben. Wir sind daher, übereinstimmend mit Henderson und Haggard[11], der Ansicht, daß das Größerwerden des RMQ seine Ursache in einer Erhöhung der Alkalireserve hat, als einer Schutzmaßnahme des Organismus gegen die drohende Acidose bei sinkender Erregbarkeit des Atemzentrums. Bereits in der zweiten Hälfte der 1. Stunde nach der Injektion steigt der respiratorische Gaswechsel wieder an. Obwohl nun die Tiere unter Pernocton wie unter Morphin keinerlei Erregung oder Bewegung zeigten — sie saßen ohne Ausnahme mit geschlossenen Augen und hängenden Ohren vollkommen ruhig im Kasten —, ist der O_2-Verbrauch während der genannten Zeit unter Morphin stärker eingeschränkt als unter Pernocton. An dieser Stelle sei auf die oben angegebenen Zahlen hingewiesen. Aus ihnen ergibt sich, daß Morphin in

[11] Henderson and Haggard: J. biol. Chem. (Am.) **33**, 345.

der 30. Minute nach der Injektion eine um 7,4%, in der 40. Minute eine um 8,0%, in der 50. Minute eine um 5,0%, in der 60. Minute eine um 3,9% stärkere Herabsetzung des O_2-Verbrauches verursacht als Pernocton. Daß diese Differenz in der O_2-Aufnahme nicht mit einer verschieden starken Herabsetzung der Motilität erklärt werden kann, dürfte aus dem oben Gesagten klar hervorgehen. Wir kommen damit zu der Annahme einer spezifischen Stoffwechselwirkung des Morphins, die die allgemein beruhigende Wirkung um etwa 50% übersteigt. Isenschmid[12] ist mit anderer Methodik zu der gleichen Annahme gelangt. An dieser Stelle könnte der Einspruch erhoben werden, daß in der genannten Zeit die Herabsetzung des AV unter den beiden Narkotica verschieden sei. Sie beträgt, wie schon erwähnt, unter Morphin 66%, unter Pernocton nur 44%. Demnach wird die Atemmuskulatur unter Pernocton etwas mehr beansprucht als unter Morphin. Daß jedoch diese geringe Differenz in der Beanspruchung der Atemmuskulatur einen Unterschied von 5% im Gesamt-O_2-Verbrauch bedingen könnte, ist abzulehnen. Ob es sich bei der Stoffwechselwirkung des Morphins um die Beeinflussung zentralnervöser oder peripherer Vorgänge, etwa in der Muskulatur, handelt, muß allerdings dahingestellt bleiben.

Im weiteren Versuchsverlauf steigt der O_2-Verbrauch der Morphin-Kaninchen langsam aber stetig an, um gegen Versuchsende bei durchschnittlich um 50% vermindertem AV mit 100,2% die Norm wieder zu erreichen. Ganz anders wirkt Pernocton bei intravenöser Applikation. Hier kommt es stets im Verlauf der 2. Stunde, also zu der Zeit, in der die Tiere erwachen, zu einem erneuten Absinken der O_2-Aufnahme, während doch, selbst wenn Pernocton eine spezifische Stoffwechselwirkung hätte, ein durch das Erwachen bedingter Anstieg des O_2-Verbrauches zu erwarten wäre. Es kann sich also nur um eine sekundäre Einschränkung des O_2-Verbrauches im Sinne einer erschwerten O_2-Aufnahme handeln, wie sie bei Kapillarschädigungen beobachtet wird. Daß Kapillarschädigungen bei intravenöser Injektion von Pernocton und anderen Barbitursäurederivaten auftreten können, ist in der Literatur mehrfach beschrieben worden[13]. Zwei Versuche, in denen Pernocton subcutan gegeben wurde, zeigen diesen Rückgang des O_2-Verbrauches nur angedeutet bzw. überhaupt nicht. Die erschwerte O_2-Aufnahme nach intravenöser Injektion von Pernocton wird bald durch Vergrößerung des AV wieder kompensiert, sei es, daß das Atemzentrum seine normale Erregbarkeit wiedererlangt, sei es, daß durch Anstieg der CO_2-Konzentration im Blute die notwendige Reizwirkung auf das Atemzentrum ausgeübt wird.

Sowohl unter Pernocton wie unter Morphin kommt es, meist von der 2. Stunde ab, zu einem Kleinerwerden des RMQ, d. h. zu einer CO_2-Aus-

[12] R. Isenschmid: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **75**, 10 (1914). — [13] A. Rühl: Ebenda **164**, 695 (1932); ebenda **174**, 96 (1934).

schüttung: Der Anstieg der Erregbarkeit des Atemzentrums führt zu einem Absinken des CO_2-Spiegels im Plasma, wodurch es zu einer Verschiebung des Verhältnisses zwischen physikalisch und chemisch gebundener CO_2 im Blute zugunsten der letzteren kommt. Damit wird die als Schutz gegen drohende Acidose eingetretene Erhöhung der Alkalireserve überflüssig und geht zurück. Die aus ihrer chemischen Bindung frei werdende CO_2 löst sich vermehrt im Plasma und wird abgeraucht. An dieser Stelle sei nochmals auf die Angaben von Henderson und Haggard hingewiesen[11].

Ein ganz anderes Verhalten zeigt der respiratorische Gaswechsel unter der Einwirkung der beiden intravenösen Kurznarkotica Evipan und Eunarcon. Wir verwandten die Dosis von 25 mg/kg bei beiden Mitteln und erzielten damit einen Schlaf von etwa 15 bzw. 10 Minuten Dauer. Zwar kommt es auch hier zu einer Herabsetzung des AV, der O_2-Verbrauch jedoch überschreitet die Norm mehr oder weniger stark und lang, um beim Erwachen der Tiere zur Norm oder auf etwas niedrigere Werte abzusinken. Wie unter Morphin und Pernocton wird gleich nach der Injektion der RMQ kleiner: CO_2-Retention bei herabgesetztem AV findet statt. Das Kleinerwerden des RMQ bei gleichzeitigem Anstieg des O_2-Verbrauches kann auf keinen Fall durch fixe Säuren verursacht sein. Somit erfährt unsere Annahme einer Erhöhung der Alkalireserve an dieser Stelle eine weitere Stütze. Herrel[10] hat gezeigt, daß Evipan und Eunarcon bereits in der von uns verwandten kleinen Dosis eine erhebliche Blutdrucksenkung verursachen, die durch Vasodilatation im Bereich der Haut und der Extremitäten verursacht wird[8]. Da sich dabei kompensatorisch die Gefäße des Splanchnicusgebietes kontrahieren, muß es zu einer Ausschüttung von Depotblut in die Blutbahn kommen. Wenn wir die Depotblutmenge[14] mit 6—15% der Gesamtblutmenge annehmen, könnte durch die Depotausschüttung ein O_2-Mehrverbrauch von etwa 2,5—3,0 ccm O_2 zustande kommen. Der von uns beobachtete O_2-Mehrverbrauch liegt jedoch im Durchschnitt höher. So beträgt er z. B. im ersten Eunarconversuch, wie sich annähernd aus dem Diagramm ersehen läßt, etwa 7 ccm. Ohne Zweifel stellt die Depotausschüttung eine Teilursache für den O_2-Mehrverbrauch dar. Außerdem legt eine deutliche Unruhe, Erregbarkeit und Schreckhaftigkeit der Versuchstiere nach beendeter Narkose die Annahme nahe, daß auch während der Narkose es nicht wie unter den meisten Narkotica zu einer Tonusherabsetzung in der Muskulatur kommt, die ja ohne entsprechende Untersuchung nicht erkennbar zu sein braucht und trotzdem einen O_2-Mehrverbrauch bedingen kann. Durchschnittlich 10 Minuten nach der Injektion fand regelmäßig ein Anstieg des RMQ statt, entsprechend dem Wiederanstieg des AV bzw. dem dadurch verursachten Absinken der Alkalireserve.

---

[14] W. R. Hess: Die Regulierung des Blutkreislaufs.

Zusammenfassung.

1. 10 mg/kg Morphinum hydrochloricum i. v. oder s. c. bewirken beim Kaninchen für die Dauer von mehreren Stunden neben Schläfrigkeit, Herabsetzung der Motilität und der Erregbarkeit des Atemzentrums eine deutliche Einschränkung des Sauerstoffverbrauches, die in der zweiten Hälfte der 1. Stunde nach der Injektion durchschnittlich 18,6—15,2% beträgt. Im weiteren Versuchsverlauf steigt der Sauerstoffverbrauch kontinuierlich wieder an, um am Ende der 4. Stunde den Normalwert zu erreichen.

2. 25 mg/kg Pernocton i. v. oder 50 mg/kg Pernocton s. c. verursachen neben einem Schlaf von mindestens 60 Minuten ebenfalls eine Einschränkung des Atemvolumens und des Sauerstoffverbrauches für etwa 4 Stunden. In der zweiten Hälfte der 1. Stunde nach der Injektion ist der Sauerstoffverbrauch durchschnittlich um 9,7—11,3% herabgesetzt.

3. Die Tatsache, daß Morphin im Vergleich zu Pernocton eine um etwa 50% stärkere Abnahme des Sauerstoffverbrauches bedingt, obwohl sich die Pernoctontiere zur angegebenen Zeit ebenso regungslos verhalten wie die Morphintiere, legt die Annahme einer spezifischen Stoffwechselwirkung des Morphins nahe.

4. Nach intravenöser Injektion von Pernocton kommt es regelmäßig nach dem Erwachen der Tiere zu einer erneuten Einschränkung der Sauerstoffaufnahme, deren Ursache wir in einer Diffusionserschwerung durch Kapillarschädigung sehen.

5. 25 mg/kg Evipan oder Eunarcon i. v. bewirken eine Narkose von 15 bzw. 10 Minuten Dauer, während der es trotz erheblicher Herabsetzung des Atemvolumens und der Motilität zu einem Mehrverbrauch von Sauerstoff kommt. Dieser Sauerstoffmehrverbrauch ist weitgehend von der Ausschüttung von Depotblut in die Blutbahn beim Absinken des Blutdruckes abhängig.

6. Die Kohlensäureausscheidung wird, von zeitlichen und quantitativen Unterschieden abgesehen, durch die 4 genannten Pharmaca im gleichen Sinne beeinflußt: Bei Abnahme der Erregbarkeit des Atemzentrums findet eine Kohlensäureretention statt als Ausdruck einer Erhöhung der Alkalireserve, bei wiederansteigendem Atemvolumen kommt es fast regelmäßig zu einer starken Kohlensäureausschwemmung, entsprechend dem Wiederabsinken der Alkalireserve.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Der Gewebsstoffwechsel nach Schädigung und physiologischer Erregung*.

Von

Norbert Brock, Hermann Druckrey und **Hans Herken.**

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. November 1938.)

1.

In systematischen Untersuchungen an Warmblütergeweben[1] haben wir beobachtet, daß ganz verschiedenartige schädigende Eingriffe charakteristische Änderungen des Gasstoffwechsels zur Folge haben. Die Atmung steigt beträchtlich an, um bald wieder abzusinken. Gleichzeitig treten aerobe Spaltprozesse in Erscheinung. Dieser Reaktion des Stoffwechsels auf eine unspezifische „Schädigung"** scheint eine allgemeinere Bedeutung zuzukommen, denn eine Wiederholung der Versuche an verschiedenartigen Geweben und an Seeigeleiern lieferte das gleiche Resultat[2].

An diesem Objekt ergaben sich erstmalig Beziehungen zwischen „Schädigung" und „physiologischer Erregung". Es ist schon seit langem bekannt[3], daß zahlreiche „schädigende" Eingriffe am unbefruchteten Seeigelei die Entwicklung auslösen können und die Oxydationsprozesse in derselben Weise steigern, wie es für die Befruchtung charakteristisch ist. Wir fanden, daß solche Schädigungen auch am befruchteten Ei zu einer ganz entsprechenden Atmungssteigerung führen und daß sich Seeigeleier während und kurz nach der natürlichen Befruchtung in mancher Hinsicht ähnlich verhalten wie geschädigte Eier. In gleiche Richtung deutet auch der weitere Befund[2], daß die schädigenden Eingriffe ebenso zu einer Permeabilitätssteigerung führen, wie dies für die

* Die Durchführung dieser Untersuchungen erfolgte mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

** Wir sind uns dessen bewußt, daß der Ausdruck „Schädigung" nicht ohne weiteres für alle von uns gebrauchten Versuchsanordnungen zutrifft. Wir behalten ihn dennoch mit Vorbehalt bei, weil wir von Versuchen ausgingen, in denen echte Schädigungen zur Anwendung kamen. Später hat sich dann gezeigt, und das wird besonders in der vorliegenden Arbeit zum Ausdruck kommen, daß eine scharfe Begrenzung des Begriffes „Schädigung" unmöglich ist, daß vielmehr sogar zur physiologischen Erregung hin gewisse fließende Übergänge bestehen. Dennoch ziehen wir es vor, nicht für jeden Sonderfall vorzeitig neue Begriffe zu prägen, sondern bemühen uns, zunächst die zugrunde liegenden Sachverhalte aufzuklären.

[1] Druckrey, H., Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 231 (1936). — [2] Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Ebenda **188**, 436, 451 (1938). — [3] Lit. bei Loeb, J.: Die chemische Entwicklungserregung der Seeigeleier. (Berlin 1909); Warburg, O.: Z. physiol. Chem. **66**, 305 (1910).

Befruchtung bereits bekannt war. Da die beschränkte Durchlässigkeit der Zellgrenzschichten bzw. Membranen „begrenzender Faktor" bei den Stoffwechselvorgängen ist, muß eine Permeabilitätssteigerung den Stoffaustausch wenigstens vorübergehend begünstigen. So ist es verständlich, daß auch schädigende Eingriffe einen mehr oder weniger anhaltenden Anstieg der Oxydationen bewirken.

Auch bei Warmblütergeweben ist sowohl die „physiologische Erregung" wie auch die „Schädigung" mit einer Durchlässigkeitssteigerung der Zellgrenzschichten verbunden[4]. Danach wäre zu erwarten, daß die „physiologische Erregung" hier ähnliche Änderungen des Atmungsstoffwechsels zur Folge hat, wie wir sie früher nach „schädigenden" Eingriffen beobachtet haben. Das ist in der Tat der Fall.

2.

Bei unseren Untersuchungen benutzten wir wiederum die von Warburg angegebene „indirekte" Methode der manometrischen Messung des Gewebsstoffwechsels unter Beachtung unserer bereits früher mitgeteilten Erfahrungen[1, 5]. Als Objekt dienten zunächst Magen und Darmschleimhaut von Ratten und Meerschweinchen oder Mäusedünndarm. Später beschränkten wir uns auf Speicheldrüsengewebe, das für diese Untersuchungen hervorragend geeignet ist. (Glandula submaxillaris von Ratte, Katze oder Hund). Die Herstellung der Schnitte erfordert allerdings einige Sorgfalt und Mühe. Suspensionsflüssigkeit war stets Ringerlösung. Die physiologische Erregung wurde durch Azetylcholin nachgeahmt, das zu gegebener Zeit aus einer „Ansatzbirne" eingekippt wurde. Das Töten der Tiere erfolgte durch Pistolenschuß.

Der Atmungsstoffwechsel (im folgenden kurz „Stoffwechsel" genannt) von normalen Speicheldrüsenschnitten zeichnet sich durch seine Gleichmäßigkeit aus. Anfangs finden sich noch recht beträchtliche Atmungswerte, oft mit gleichzeitiger aerober Säurebildung, die wir nach früheren Untersuchungen[1] auf methodisch bedingte Schädigungen beziehen können. Dann „normalisiert" sich die Atmung bei einem respiratorischen Quotienten unter 0,9 auf gleichbleibende Werte, die je nach der verwendeten Drüse zwischen $Q_{O_2} = 4$ und $Q_{O_2} = 8$ liegen.

3.

Zunächst wurde das Verhalten des Stoffwechsels der Speicheldrüse nach verschiedenartigen „Schädigungen" geprüft, um festzustellen, ob die an anderen Geweben gefundenen Gesetzmäßigkeiten auch bei diesem Gewebe reproduzierbar sind. Das war durchaus der Fall. Unabhängig von der Art des Eingriffs trat eine erhebliche Steigerung der Atmung mit aerober Säurebildung in Erscheinung. Auch die Beziehungen zwischen der „Dosis" und Wirkung waren die gleichen, wie wir sie bei anderen Ge-

[4] Lit. bei Gellhorn, E.: Das Permeabilitätsproblem (Berlin 1929); Lepeschkin, W. W.: Zell-Nekrobiose und Protoplasma-Tod (Berlin 1937). — [5] Druckrey, H.: Arch. exper. Zellforsch. z. Z. im Druck.

weben und Zellen gefunden haben[1, 2]. Als Beispiel ist die Wirkung eines „schädigenden" physikalischen (Hypertonie) und eines pharmakologischen (Chinin) Eingriffes kurvenmäßig dargestellt (Abb. 1a und b).

Anschließend haben wir dann die Reaktion des Stoffwechsels auf eine „physiologische Erregung" untersucht. Nach Einstellung des Stoffwechsels auf normale Werte wurde aus der Ansatzbirne Azetylcholinchlorid eingekippt. Die Endkonzentration betrug 1 : 1500000. Das Ergebnis gibt die Abb. 2 wieder. Die Atmung steigt sofort um mehr als 100 % an, gleichzeitig tritt eine (aerobe) Säurebildung auf. Dann sinkt der Stoffwechsel — häufig

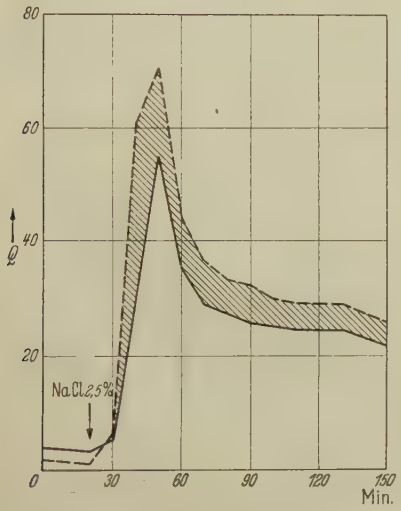


Abb. 1a. Gasstoffwechsel von Speicheldrüsenschnitten unter der Einwirkung einer hypertonischen Lösung (Na Cl Endkonzentration = 2,5 %).

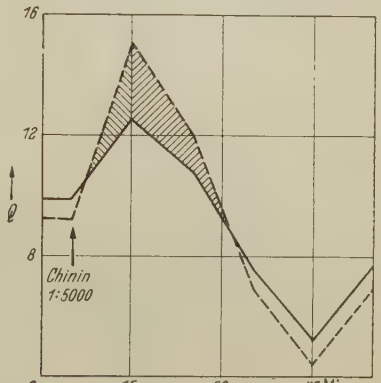


Abb. 1b. Wirkung eines Chininzusatzes (Endkonzentration 1 : 5000) auf den Gewebsstoffwechsel der Speicheldrüse.

In sämtlichen Abbildungen handelt es sich um den Stoffwechsel von Schnitten der Glandula submaxillaris vom Hunde oder von der Katze. Ausgezogene Linie = Sauerstoffverbrauch, gestrichelte Linie = CO_2-Bildung. Ordinatenwerte in Q = cmm. Gas pro Stunde und mg Trockensubstanz. Schraffiertes Feld = „Extrakohlensäure"-Bildung. Die angegebene Dosis bezieht sich stets auf die Endkonzentration.

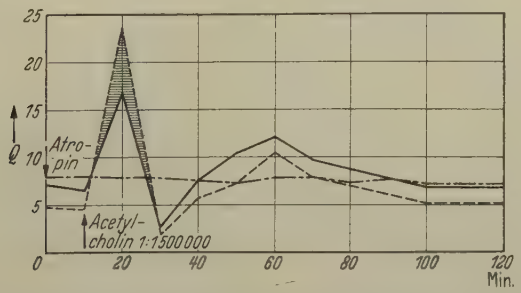


Abb. 2. Stoffwechselablauf von Gewebsschnitten der Speicheldrüse nach Zusatz von Azetylcholin. Strich-Punkt Kurve: Sauerstoffverbrauch von vorher atropinisiertem Gewebe. Auf Azetylcholin keine Reaktion.

nach kleinen Nachschwankungen — wieder auf normale Werte. Die Versuche wurden an normalen Speicheldrüsengeweben verschiedener Tierarten (Hund, Katze und Ratte) häufig wiederholt. Die Wirkung war gesetzmäßig reproduzierbar.

Die Tatsache, daß schon geringere Konzentrationen als 10^{-6} eine so charakteristische Wirkung haben, deutet darauf hin, daß diese Wirkung spezifisch ist. Die aerobe Säurebildung kann auch nicht auf die Spaltung des Azetylcholins bezogen werden, da hierbei von einem γ Azetylcholin nur etwa 0,15 cmm CO_2 freigesetzt wird. Diese Menge liegt aber um zwei Größenordnungen unter der Gesamtmenge des entstandenen CO_2 und kann daher vernachlässigt werden. Die Spezifität der Wirkung ergibt sich endgültig aus Versuchen an „atropinisierter" Speicheldrüse. Hier ist

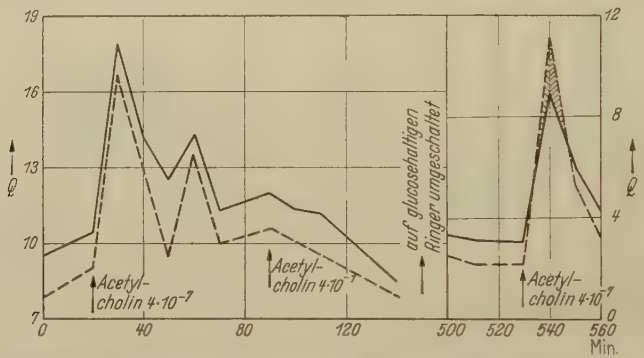


Abb. 3. Azetylcholin auf Speicheldrüsenschnitte im zuckerfreien Ringer und nach Zuckerzusatz.

Azetylcholin ohne Wirkung (Abb. 2). Auch der Stoffwechsel von Leberschnitten wird nicht in der charakteristischen Weise verändert.

Die Stoffwechselsteigerung ist als Folge der mit der Erregung verbundenen Permeabilitätssteigerung leicht zu verstehen. Ein Ausgleich eines „Oxygen Debts" kommt hier wie auch bei der „Schädigungsreaktion" nicht in Frage, weil niemals eine Sauerstoffschuld eingegangen ist[6]. — Zur Deckung des Energiebedarfs bei der Azetylcholin-„Erregung" wird die Glykose der Ringerlösung mitbenutzt, denn im zuckerfreien Ringer tritt nach Erregung keine aerobe Säurebildung auf, sondern nur eine Atmungssteigerung (Abb. 3). Hierbei wird offenkundig zelleigenes Kohlehydrat verbrannt. Wird nämlich der geringe Glykogengehalt der Speicheldrüse erschöpft, so tritt in zuckerfreiem Ringer auf Azetylcholinzusatz keine Reaktion mehr ein (Abb. 3). Nach Zuckerzusatz reagiert das Gewebe dann wieder in der typischen Weise (Abb. 3). Diese Versuche zeigen also, daß der Erregungsvorgang bei der Speicheldrüse an das Vorhandensein von Kohlehydrat gebunden ist. Der „Grundstoffwechsel" verläuft dagegen auch bei hochgradigem Mangel von spaltbarem Kohlehydrat anscheinend

[6] Brock, N.: Arch. exper. Zellforsch. z. Z. im Druck.

ungestört. Das Gewebe ist unter diesen Umständen auch keinesfalls schwer geschädigt, denn Zuckerzusatz stellt die Erregbarkeit wieder her. Auf die Analyse der mit der „Erregung" verbundenen Stoffwechselvorgänge werden wir an anderer Stelle ausführlich eingehen[7].

Die Wirkung des Azetylcholins auf den Stoffwechsel isolierter Gewebe ist unseres Wissens noch nicht genauer untersucht. Es liegt lediglich von Deutsch und Raper[8] eine Arbeit vor, die sich mit der Wirkung des Azetylcholins und ähnlich wirkender Stoffe auf den Sauerstoffverbrauch der Speicheldrüse im sogen. direkten Versuch nach Warburg beschäftigt. Die CO_2-Bildung und die Spaltprozesse sind nicht berücksichtigt. So wird lediglich eine Steigerung des Sauerstoffverbrauchs nach Zusatz der genannten Pharmaca festgestellt, ohne die Bedeutung der Stoffwechselvorgänge näher zu untersuchen. Befunde mit der „direkten" Methode haben bei Warmblütergeweben aber nur einen bedingten Wert, weil im praktisch CO_2-freien, also unphysiologisch alkalischen Milieu gearbeitet wird. Dennoch haben wir die Versuche wiederholt und können sie durchaus bestätigen. Der Anstieg und spätere Abfall der Atmung erfolgt bei dieser Versuchsanordnung etwas weniger steil, erreicht auch nicht ganz die im „indirekten" Versuch gefundenen Werte, weil die Atmungskohlensäure nicht so schnell gebunden wird; im Anfang verdeckt sie also einen Teil des Sauerstoffverbrauchs, während später die Absorption eine weitere erhöhte Atmung vortäuscht. Der Fehler ist jedoch gering, so daß die direkte Methode für grobe Messungen durchaus brauchbar sein kann.

4.

Bei früheren Untersuchungen über den Stoffwechsel des geschädigten Gewebes haben wir beobachtet, daß je nach der Schwere des schädigenden Eingriffs nicht nur die Größe der Stoffwechselreaktion eine verschiedene war, sondern daß auch qualitative Unterschiede auftraten. Geringgradige Schädigungen führten lediglich zu einem vorübergehenden flachen Anstieg der Atmungskurve, ohne daß meßbare Spaltprozesse auftraten. Mit zunehmender Schwere der Schädigung nahm die Steilheit und Höhe des Atmungsanstiegs zu, während sich seine Dauer verkürzte. Gleichzeitig trat eine aerobe Säurebildung auf, die zunächst auf eine Glykogenolyse zu beziehen war. Bei hochgradigster Schädigung und vor allem bei geschädigten glykogenarmen Geweben fanden wir eine andere Form einer aeroben Säurebildung, die sich wie eine Glykolyse verhielt[7, 9].

Nach diesen Beobachtungen war anzunehmen, daß auch bei der physiologischen Erregung der Speicheldrüse durch Azetylcholin nur dann eine aerobe Kohlehydratspaltung auftritt, wenn verhältnismäßig hohe Dosen Azetylcholin zur Anwendung kamen. Wir haben deshalb geringere

[7] Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Biochem. Z. **300**, 1 (1938). — [8] Deutsch, W., u. H. S. Raper: J. Physiol. (Brit.) **87**, 275 (1936). — [9] Herken, H.: Arch. exper. Zellforsch. z. Z. im Druck.

mehr „physiologische" Konzentrationen benutzt. Bei $2{,}5 \cdot 10^{-8}$ trat eine kräftige Atmungssteigerung um etwa 200 % auf, aber keine aerobe Extrakohlensäurebildung (Abb. 4). Noch geringere Dosen wurden ebenfalls nur noch mit einem Anstieg der Atmung beantwortet, der Erfolg war jedoch mit fallender Dosis zunehmend unsicher.

Bei unseren ersten Versuchen mit geringen Azetylcholin-Konzentrationen traten häufig „irreelle" Werte auf. Bei der von uns gebrauchten „indirekten" Methode (Warburg) werden stets zwei Ansätze mit gleichen Gewebsmengen in gleichen Gefäßen untersucht, die aber verschiedene Flüssigkeitsmengen enthalten. Auf Grund der verschiedenen Löslichkeit des Sauerstoffs einerseits und andererseits des CO_2 in der wässerigen Phase sind die gemessenen Druckänderungen in beiden Ansätzen verschieden. Aus der Differenz läßt sich dann berechnen, wieviel Sauerstoff verbraucht und wieviel CO_2 entstanden ist. Die Methode setzt also voraus, daß beide Ansätze sich stets unter gleichen Bedingungen befinden. Das ist aber bei Anwendung gleicher Azetylcholin-Konzentrationen offenkundig nicht der Fall, weil die Ansätze um annähernd das Dreifache verschiedene Flüssigkeitsmengen und damit auch trotz gleicher Konzentration verschiedene Azetylcholinmengen enthalten. Die Verseifung des Azetylcholins ist daher in einem Gefäß schneller abgeschlossen als im anderen. Die dadurch bedingten Störungen waren am größten, wenn das Verhältnis Gewebsmenge : Azetylcholin stark nach links verschoben wurde. Aus diesem Grunde empfiehlt es sich, mit möglichst kleinen Gewebsmengen zu arbeiten. Die „Dosis" ist in Versuchen mit Azetylcholin also durch die Angabe der Konzentration nicht genügend definiert; es ist die Berücksichtigung der Gesamtmenge erforderlich, wobei unter Umständen noch die Funktion der Zeit hinzukäme.

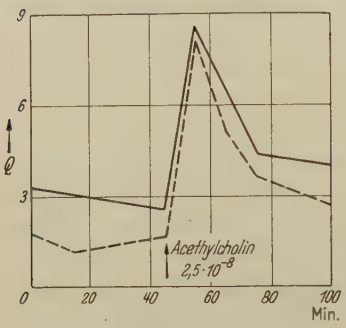


Abb. 4. Wirkung einer geringen Azetylcholindosis auf den Stoffwechsel der Speicheldrüse.

5.

Von einer „physiologischen Erregung" ist zu erwarten, daß sie voll reversibel ist. Unter den vorliegenden Versuchsbedingungen würde das bedeuten, daß 1. der Stoffwechsel nach Ablauf der Wirkung qualitativ und quantitativ zur Norm („Grundstoffwechsel") zurückkehrt und daß 2. bei Wiederholung des Eingriffs wieder die charakteristische Wirkung erzielt werden kann. Die Rückkehr zum Grundstoffwechsel geht aus der Abb. 2 hervor. Auch die Ansprechbarkeit auf Azetylcholin kehrt selbst bei Anwendung sehr hoher Dosen wieder, wie die Abb. 5 zeigt. Das ist

jedoch nur der Fall, wenn dem Gewebe Kohlehydrat zugeführt wird (s. oben). Die völlige Reversibilität hat hier also das Vorhandensein von Kohlehydrat zur Voraussetzung[7].

Auch hinsichtlich der „Reversibilität" besteht zwischen der „physiologischen Erregung" und der unspezifischen „Schädigung" kein unbedingter Gegensatz. Das Gewebe ist auch nach schädigenden Eingriffen in hohem Maße in der Lage, seinen Stoffwechsel wieder zu „normalisieren" und auf wiederholte Reize anzusprechen. Hierbei spielt ebenfalls der Kohlehydratgehalt des Gewebes, und sofern Synthesen möglich sind, auch der der Suspensionsflüssigkeit anscheinend eine bedeutsame Rolle. Auf diese Fragen werden wir später zurückkommen.

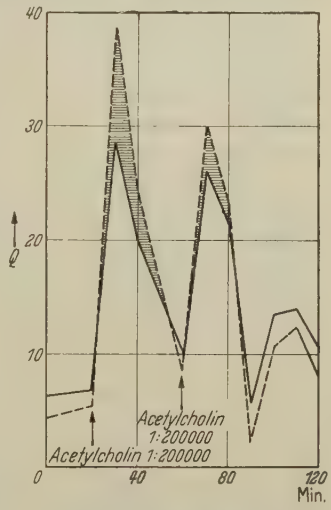


Abb. 5. Wiedererregbarkeit der Speicheldrüse nach hoher Azetylcholindosis.

Selbst nach Schädigung durch Sauerstoffmangel, gegen den normale Warmblütergewebe sehr empfindlich sind, kann eine weitgehende Wiederherstellung der Erregbarkeit eintreten, wenn während dieser Zeit der Stoffwechsel künstlich gehemmt wird. Nach Aufbewahrung der Speicheldrüse über 24 Stunden auf Eis und unter Sauerstoffmangel erholten sich die Gewebsschnitte

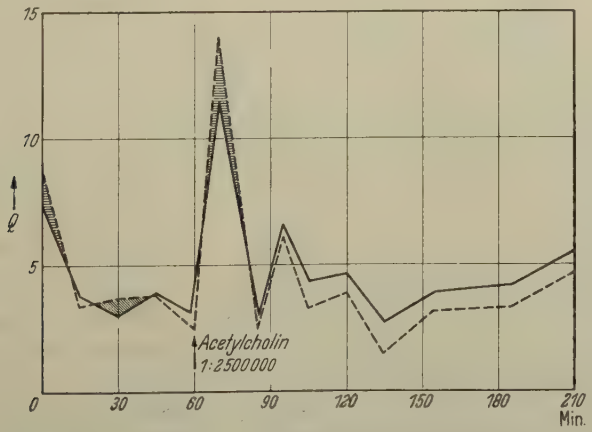


Abb. 6. Wirkung von Azetylcholin auf eine „geschädigte" Speicheldrüse (siehe Text).

stets wieder und reagierten auf Azetylcholin noch in der charakteristischen Weise (Abb. 6), sofern die Ringerlösung Glykose enthielt. Die Kälte allein schädigt hier nicht nachweisbar, wenn eine Kristallisation von Eis

im Gewebe verhindert wird. Wird das Gewebe dagegen bei Zimmertemperatur auch nur 3 Stunden unter Sauerstoffmangel aufbewahrt, so erholt es sich nicht mehr.

Die Tatsache, daß solche Gewebsschnitte auf eine geringe Dosis Azetylcholin noch mit einer charakteristischen Stoffwechselreaktion antworten, zeigt am klarsten, daß die bei der Untersuchung des Gewebsstoffwechsels gebrauchten Gewebsschnitte durchaus als lebende Gewebe angesprochen werden können und daß die hier gewonnenen Ergebnisse wenigstens mit gleichem Recht verwertet werden können, wie dies auch sonst bei isolierten Organen geschieht. Die vorliegenden Untersuchungen zeigen sogar, daß vor allem bei glykogenarmen Geweben die Sicherstellung der normalen Stoffwechselvorgänge entscheidende Bedeutung für eine pharmakologische Wirkung haben kann, eine Bedingung, die bei isolierten Organen nicht immer bestens erfüllt ist. Wir bemühen uns, diese Verhältnisse aufzuklären und einen Eindruck davon zu gewinnen, in welcher Weise pathologische Zustände den Stoffwechsel verändern und wie pharmakologische Wirkungen hierdurch beeinflußt werden.

6.

Im Anschluß an die Versuche mit Azetylcholin, das uns als Beispiel einer physiologisch wirkenden Substanz diente, haben wir als „Pharmakon" das Physostigmin untersucht. Wir wählten es, weil seine Wirkung einerseits der physiologischen Erregung gleichgesetzt werden kann, andererseits bereits in das „Unphysiologische" hineinreicht. Die Wirkung entsprach in unserer Versuchsanordnung der des Azetylcholins insoweit durchaus, als auch hier die gleiche charakteristische Stoffwechselreaktion auftrat. Ein Unterschied bestand lediglich darin, daß die Wirkung des Physostigmins erst nach etwa 10 Minuten begann und wesentlich länger anhielt (Abb. 7). Die Stoffwechselreaktion nach physiologischer Erregung stimmt also mit der nach einer „Schädigung" beobachteten grundsätzlich so vollkommen überein, daß sich aus der aufgenommenen Stoffwechselkurve nicht sagen läßt, um welchen Eingriff es sich gehandelt hat.

Die vorliegenden Untersuchungen deuten darauf hin, daß die Zelle nicht über beliebige Möglichkeiten verfügt, einen physiologischen oder unphysiologischen „Reiz" zu beantworten, sich vielmehr durch eine außerordentliche Armut an solchen Möglichkeiten auszeichnet. Soweit wir sehen, spielen vornehmlich Änderungen der Permeabilität der Zellgrenzschichten oder Änderungen des Quellungszustandes der Eiweißkörper oder Lipoide eine Rolle, während die beobachteten Stoffwechselvorgänge erst eine Folge dieser zu sein scheinen, wenn sie auch ihrerseits wieder als ursächliches Moment in Frage kommen können. Wir trafen diese Verhältnisse bei der künstlichen oder natürlichen Entwicklungserregung des Seeigeleies ebenso,

wie bei der Wirkung physiologischer und pathologischer „Reize" bei Warmblütergeweben, mit denen sich die vorliegende Arbeit beschäftigt. Die Frage der unspezifischen Wirkung gewinnt in zunehmendem Maße an Interesse, vor allem auf dem Gebiet der Zellforschung.

Von einer eingehenden Erörterung unserer Befunde möchten wir solange absehen, bis wir durch weitere Untersuchungen in genügendem Umfang Klarheit über diese Vorgänge gewonnen haben.

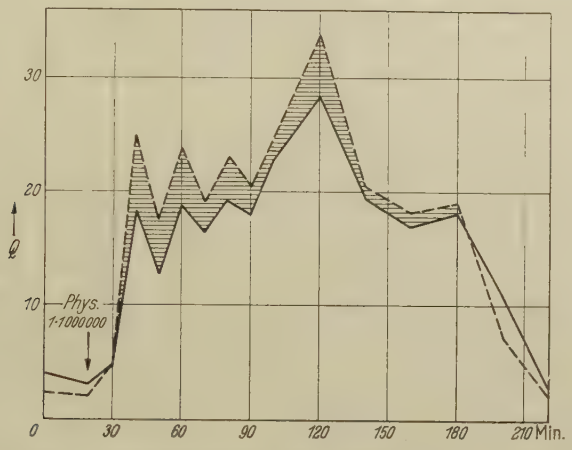


Abb. 7. Wirkung von Physostigmin auf den Stoffwechsel der Speicheldrüse.

Zusammenfassung.

1. Der Gewebsstoffwechsel der Speicheldrüse von Hund, Katze und Ratte wird nach der Methode von Warburg untersucht.

2. Auf Zusatz von Azetylcholin („physiologischer Reiz") tritt ein charakteristischer Stoffwechselanstieg mit Bildung „fixer Säuren" (Glykogenolyse) auf. Durch Atropin läßt sich die Wirkung aufheben. Die Gewebsschnitte reagieren also in vitro grundsätzlich ebenso, wie die Drüse in vivo.

3. Physostigmin hat eine qualitativ gleiche, aber langanhaltende Wirkung auf den Stoffwechsel der Speicheldrüsenschnitte.

4. Die nach „physiologischer Erregung" beobachtete Stoffwechselreaktion entspricht weitgehend derjenigen, die durch unspezifische schädigende Eingriffe ausgelöst werden kann. Zwischen „physiologischer Erregung" und unspezifischer Schädigung scheinen keine unbedingten Gegensätze, sondern auch Übergänge und Beziehungen zu bestehen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Über das chlorogensaure Kalicoffein*.

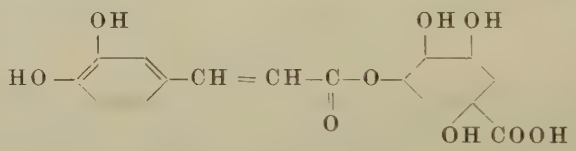
Von

H. Gebhardt.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. November 1938.)

Im Jahre 1820 hat Runge das Coffein aus der Kaffeebohne isoliert und in der Folge wurde seine Bedeutung als Hauptwirkstoff des Kaffeegetränks erkannt. 1849 fand Payen[1] den Beistoff des Coffeins, eine Säure, die er Chlorogensäure nannte, weil sich ihre ammoniakalische Lösung an der Luft grün färbt. Payen konnte nachweisen, daß das Coffein in der Bohne an diese Säure als Coffeindoppelsalz gebunden vorliegt. Aus der Beschreibung seiner Versuche geht aber hervor, daß er die Säure nicht ganz rein gewonnen hat. Erst die gründlichen Untersuchungen Gorters[2] gewährten einen Einblick in die Konstitution der Chlorogensäure. Sie ist ein Depsid, ein Ester der Kaffee- mit der Chinasäure mit folgender Konstitution:



In neuerer Zeit fand man, daß die Chlorogensäure in der Bohne auch in freier Form vorhanden ist. Beim Röstprozeß geht, je nach seiner Intensität, mehr oder weniger Chlorogensäure verloren. Es bleibt aber immer noch ein beträchtlicher Rest von chlorogensaurem Kalicoffein übrig. Ob die Chlorogensäure auf die Wirkung des Coffeins einen Einfluß hat, sollte untersucht werden.

I.

Diese Fragestellung wurde zunächst an Toxizitätsversuchen studiert. Durch intravenöse Injektion von Coffein- und chlorogensauren Kalicoffeinlösungen legten wir die letalen Dosen beider Substanzen am Kaninchen fest. Dann trachteten wir danach, die physiologischen Resorptions-

* Eingereicht zur Erlangung der Würde eines Dr. med. habil. in der medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München.

[1] A. ch. (3), **26**, 108 (1849). — [2] A. **358**, 327; **359**, 217 (1908). Ar. **247**, 184 (1909). A. **379**, 110 (1911).

verhältnisse des Coffeins nachzuahmen, d. h. einen langsamen Coffeinresorptionsstrom zu bekommen.

Methodik.

Diese Versuche wurden an urethannarkotisierten, blasenkatheterisierten Kaninchen durchgeführt. Eine Venenkanüle in der Jugularis externa war verbunden mit dem Dauerinfusionsapparat nach Straub[3]; dieser Apparat gestattet außerordentlich langsame Dauerinfusionen durchzuführen. Wir verwendeten Coffein- und chlorogensaure Kalicoffeinlösungen verschiedener Konzentration. Die Messung der Coffeinausscheidung im Harn ließ uns einen Einblick gewinnen in die Coffeinbilanz bei diesen Versuchen.

Die Coffeinbestimmung im Harn.

Über Coffeinbestimmungen im Harn haben Rost[4], Gourewitsch[5], Bock und Bech Larsen[6], Alfred Felix Kunz[7] gearbeitet. Die exakteste Methode zur Bestimmung kleinster Coffeinmengen bis 0,1 mg wurde von Kunz[7] ausgearbeitet. Die Methode ist zeitraubend und war außerdem für diese Zwecke unnötig, da unsere kleinsten Coffeinmengen im Harn über 5 mg lagen. So arbeiteten wir eine Coffeinbestimmung aus, die es gestattet, in wenigen Stunden den Coffeinwert des Harns in Händen zu haben. Wir stützten uns dabei auf die Erfahrungen von Gourewitsch.

50 ccm coffeinhaltiger Harn wird mit dem vierfachen Volumen Wasser verdünnt und mit 50 ccm Bleiessig und etwas Ammoniak gefällt. Vom klar abgesetzten Niederschlag filtriert man ab, wäscht ihn mit heißem Alkohol nach und entbleit Filtrat und Waschflüssigkeit mit Schwefelwasserstoff. Den Schwefelbleiniederschlag auf dem Filter wäscht man gut mit heißem Wasser nach. Das schwach ammoniakalisch gemachte Filtrat des Bleisulfidniederschlages wird fünfmal kräftig mit Chloroform ausgeschüttelt. Emulsionsbildungen, wie sie Bock und Bech Larsen beschrieben, traten kaum auf. Weiterhin konnte auf die kontinuierliche Chloroformextraktion verzichtet werden, da die Chloroformausschüttelung, die höchstens 45 Minuten in Anspruch nimmt, quantitativ arbeitet. Die Chloroformlösung wird mit wasserfreiem Natriumsulfat entwässert, das Natriumsulfat auf dem Filter schließlich mehrmals mit Chloroform behandelt und die gesammelten Chloroformlösungen eingetrocknet. Der Rückstand bestand aus weißen Nadeln; manchmal war er auch schwach gelb gefärbt. Der durch Wägung festgestellte Coffeinwert lag bis 20% über der Coffeineinwaage. Da die Verunreinigungen des Rückstandes fast ausschließlich fettähnliche Körper sind, wurde das Coffein durch seinen Stickstoff quantitativ bestimmt (nach Parnass und Wagner[8]). Dabei ist zu beachten, daß das Veraschen des Coffeins längere Zeit in Anspruch nimmt. Die Lösung muß mehrmals mit 1—2 ccm stickstofffreiem Perhydrol verkocht werden. Wird diese Maßnahme unterlassen, so erfaßt die Stickstoffbestimmung 2 Stickstoffatome, unter Umständen 3 Stickstoffatome des Purinringes, d. h. sie liefert um 50 bzw. 25% zu niedrige Werte. Die Coffeineinwaage bei der Stickstoffbestimmung soll im einzelnen Versuch (wonach sich die Verdünnung des Chloroformrückstandes zu richten hat), um 1 mg liegen.

---

[3] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 456 (1937). — [4] Ebenda **36**, 56 (1895). — [5] Ebenda **57**, 214 (1907). — [6] Ebenda **81**, 15 (1917). — [7] Biochem. Z. **275**, 270 (1935). — [8] Ebenda **125**, 253 (1921).

Die der Methode anhaftenden Schönheitsfehler wurden bewußt nicht umgangen; Zeitdauer für die Bestimmung: 5 Stunden. Genauigkeit derselben: 5% waren ausschlaggebender als eine exakte Trennung des Coffeins von den letzten stickstoffhaltigen Verunreinigungen.

Versuche.

1.

Blindversuch. 100 ccm Kaninchenharn liefern nach obiger Methode 0,1 mg Stickstoff. was einem Coffeinwert von 0,36 mg entspricht.

2.

100 mg Coffeinum purum (entwässert durch mehrstündiges Trocknen bei 100°) wird in 100 ccm Kaninchenharn gelöst und die Coffeinbestimmung durchgeführt. Gefundener Coffeinwert: 95.5 mg. d. h. 95,5% der Einwaage.

Wiederholungen dieses Versuchs ergaben 95.0% und 98.8% der Einwaage.

3.

Kaninchen erhielt 112 mg/kg/Stunde Chlorogensäure infundiert, insgesamt 1340 mg Chlorogensäure. Tier überlebt. Keine toxischen Erscheinungen.

Kaninchen erhielt 670 mg/kg Chlorogensäure intravenös injiziert. Tier überlebt. Keine toxischen Erscheinungen.

4.

Intravenöse Injektionsversuche mit Coffein- und chlorogensauren Kalicoffeinlösungen an Kaninchen:

	Als Coffeinum purum	Als chlorogensaures Kalicoffein
1fach tödliche Dosis Coff./kg = 75 mg Coff./kg Kaninchen	Tier stirbt	Tier überlebt
$1^1/_2$fach tödliche Dosis Coff./kg = 113 mg Coff./kg Kaninchen		Tier überlebt
2fach tödliche Dosis Coff./kg = 150 mg Coff./kg Kaninchen		Grenzdosis
$2^1/_2$fach tödliche Dosis Coff./kg = 188 mg Coff./kg Kaninchen		Tier stirbt

5.

Dauerinfusionsversuche mit Coffein- und chlorogensauren Kalicoffeinlösungen an Kaninchen:

	Als Coffeinum purum		Als chlorogensaures Kalicoffein	
	Lebensdauer der Tiere	Coffeinausscheidung während der Infusionsdauer	Lebensdauer der Tiere	Coffeinausscheidung während der Infusionsdauer
10 mg Coff./kg/Std. insgesamt: 75 mg/kg Coff. = 1fach tödliche Dosis	Tier überlebt	1,8%	Tier überlebt	18,8%
50 mg Coff./kg/Std. insgesamt: 300 mg/kg Coff. = 4fach tödliche Dosis	Tier stirbt nach 360 Min.	1,9%	Tier stirbt nach 660 Min.	7,8%
210 mg Coff./kg/Std. insgesamt: 300 mg/kg Coff. = 4fach tödliche Dosis	Tier stirbt nach 90 Min.	1,3%	Tier stirbt nach 300 Min.	12,7%

Ergebnis.

1. Die einfach tödliche Minimaldosis Coffeinum purum intravenös injiziert führt in kurzer Zeit zum Tode.

2. Die Chlorogensäure, Kaninchen grammweise intravenös injiziert, hat keine sichtbaren toxischen Wirkungen.

3. Die einfach tödliche Minimaldosis Coffein als chlorogensaures Kalicoffein intravenös injiziert, führt nicht zum Tode. Man braucht in diesem Falle die $2^1/_2$fache Menge.

4. Bei langsamer Infusion der einfach tödlichen Dosis Coffein bzw. chlorogensaurem Kalicoffein ist diese unwirksam.

5. Man muß die Dosen steigern, um tödliche Wirkungen zu erzielen. Dabei sinkt die Lebensdauer der Tiere und zwar bei Coffein beträchtlich schneller als beim chlorogensauren Kalicoffein.

6. Die Coffeinausscheidung bei Infusion von chlorogensaurem Kalicoffein liegt bei gleichen Versuchsdauern bis zum zehnfachen Betrag über den Werten der Coffeinausscheidung bei Verwendung von Coffeinum purum.

II.

Die Dauerinfusion von Coffein und chlorogensaurem Kalicoffein erbrachte auch eine Erhöhung des diuretischen Effektes. Die Messung der diuretischen Wirkung der Coffeinpräparate am blasenkatheterisierten Kaninchen lieferte zu unsichere Werte. Bonsmann[9] mißt die Diurese der Maus. Wir fanden, daß die Messung der Urinmenge, die von Mäusen ausgeschieden wird, ziemlich ungenau ist. Deshalb bedienten wir uns einer von uns ausgearbeiteten Methode, die sich an die Burnsche Methode zur Bestimmung der antidiuretischen Wirksamkeit anlehnt.

[9] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **174**, 453 (1934).

Methodik.

Pro Versuch werden vier männliche Ratten, die durchschnittlich 200 g wiegen, verwendet. Den Tieren wird am Abend vor dem Versuch das Futter weggenommen. In Leerversuchen liefern vier Ratten in 180 Minuten eine durchschnittliche Urinmenge von 3—6 ccm. (Abb. 1: Der Beginn des Leerversuchs wird in den Diuresekurven durch einen Pfeil mit einer mittelständigen Pfeilspitze: ↓ angedeutet. Auf den Abszissen entspricht 1 cm einer Zeitdifferenz von 30 Minuten, die ausgezeichnete Fläche gibt die Harnbildung in ccm/30 Minuten.)

Zu Beginn des Diureseversuchs wird jeder Ratte subcutan 5 ccm einer 0,2%igen, also hypotonischen Kochsalzlösung, pro 200 g Ratte gegeben. (In den Kurven mit

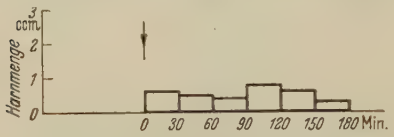


Abb. 1. Leerversuch. Harnmenge in 180 Minuten: 3,2 ccm.

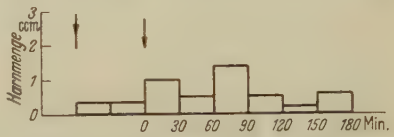


Abb. 2. Injektion von 5 ccm 0,2%iger Kochsalzlösung pro 200 g Ratte. Harnmenge in 180 Minuten nach ↓: 4,2 ccm.

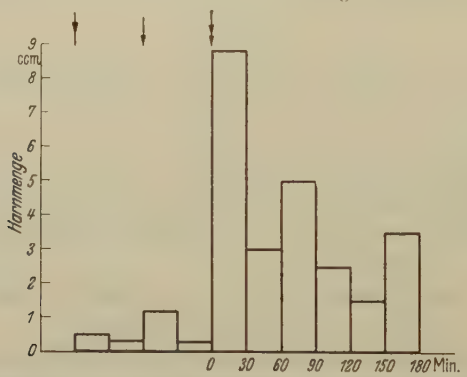


Abb. 3. Subcutane Injektion von 60 mg chlorogensaurem Kalicoffein pro 200 g Ratte. Harnmenge in 60 Minuten nach ↓: 11,8 ccm. Harnmenge in 180 Minuten nach ↓: 24,3 ccm.

einem Pfeil mit einer endständigen Pfeilspitze: ↓ bezeichnet.) Die Salzwasserinjektion hat sich als wertvoll erwiesen, da ohne dieselbe der diuretische Effekt der Präparate außerordentlich niedrig bleibt und stark wechselnde Resultate liefert. Die Diuresekurve (Abb. 2) zeigt, daß von einer Diureseanregung durch das injizierte Wasserdepot keine Rede sein kann.

Im laufenden Versuch wird 60 Minuten nach Injektion der Kochsalzlösung das zu untersuchende Präparat gespritzt oder per os gegeben. (In den Kurven mit einem Pfeil mit zwei Pfeilspitzen: ↓ bezeichnet.) Dann wird halbstündig die Urinmenge abgelesen. Die Diureseanregung zeigt sich meist bereits in der zweiten Viertelstunde nach der Injektion und klingt — bei großen Dosen — spätestens nach 120—150 Minuten ab (Abb. 3).

In den Rattenharnen wurden Coffein- und Chlorogensäurebestimmungen durchgeführt.

Die Bestimmung von Chlorogensäure im Harn.

Qualitativ ist die Chlorogensäure durch ihre Eisenchloridreaktion (Grünfärbung) oder durch die Ammoniakprobe (Gelbgrünfärbung) leicht nachzuweisen. Quantitative Chlorogensäurebestimmungen liegen vor

für Kaffee oder Kaffeeauszüge von Höpfner[10], Griebel[11], Pflücker und Keilholz[12].

Die von mir für den Harn ausgearbeitete Methode ist folgende:

100 ccm aufs fünffache mit Wasser verdünnter chlorogensäurehaltiger Harn wird mit 2 ccm frisch bereiteter 25%iger Bleiacetatlösung aufgekocht. Das p_H des bleizuckerhaltigen Harns soll um den Neutralpunkt liegen. Man läßt erkalten, filtriert und wäscht den gelben Niederschlag mit Wasser. Der Niederschlag wird in siedendheißem Methanol suspendiert und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Dann wird abfiltriert, der Bleisulfidniederschlag gründlich mit Methanol ausgewaschen und Methanollösung und Waschflüssigkeit eingetrocknet. Den Rückstand oder dessen wässerige Lösung eluiert man mit Äther und anschließend mit Schwefelkohlenstoff bis zur Gewichtskonstanz der Trockensubstanz.

Die Genauigkeit der Methode wächst mit steigenden Chlorogensäuremengen. Werte unter 10 mg Chlorogensäure müssen durch Titration ihres Kaffeesäuregehaltes bestimmt werden. Die Methode kann gut zu Chlorogensäurebestimmungen in Kaffeeauszügen dienen.

Nach Beendigung dieser Arbeit wurde in den Berichten der Deutschen chemischen Gesellschaft von Slotta und Neißer[13] ein Verfahren zur Bestimmung von Chlorogensäure in Roh-, Röstkaffee und Kaffeegetränk angegeben. Diese Chlorogensäurebestimmung mit Hypojodit kann ebenfalls zur Bestimmung der Chlorogensäure im Harn nach obigem Verfahren herangezogen werden.

Versuche.

Von Interesse für unsere Fragestellung waren lediglich die Grenzdosen Coffein, chlorogensaures Kalicoffein, zum Vergleich auch Coffeinum Natrium salicylicum, die an der Ratte gerade noch eine Diureseanregung hervorriefen. Dabei kamen wir zu folgenden Resultaten:

	Als Coffeinum purum				Als chlorogensaures Kalicoffein				Als Coffeinum Natrium salicylium			
	subcutan		per os		subcutan		per os		subcutan		per os	
	Harnmenge in ccm nach 60 Min.	Harnmenge in ccm nach 180 Min.	Harnmenge in ccm nach 60 Min.	Harnmenge in ccm nach 180 Min.	Harnmenge in ccm nach 60 Min.	Harnmenge in ccm nach 180 Min.	Harnmenge in ccm nach 60 Min.	Harnmenge in ccm nach 180 Min.	Harnmenge in ccm nach 60 Min.	Harnmenge in ccm nach 180 Min.	Harnmenge in ccm nach 60 Min.	Harnmenge in ccm nach 180 Min.
3,3 mg Coff./200 g R.					2,4 (Abb. 6)	4,2	3,1	5,8				
5,0 mg Coff./200 g R.					5,1 (Abb. 7)	6,6	6,0	10,0				
7,5 mg Coff./200 g R.			2,8	4,6	6,6	8,3	6,0	10,0	1,4 (Abb. 8)	4,9	3,6	5,4
10,0 mg Coff./200 g R.	2,8 (Abb. 4)	5,1	4,2	8,3					6,0 (Abb. 9)	8,1	6,2	9,1
15,0 mg Coff./200 g R.	5,6 (Abb. 5)	8,8	6,0	9,0					6,0	9,1		
20,0 mg Coff./200 g R.	8,0	15,5										

[10] Chem. Zeitung **56**, 991 (1932). — [11] Ebenda **57**, 353 (1933). — [12] Ebenda **57**, 875 (1933). — [13] Slotta u. Neißer: Ber. d. ch. Ges. **71**, 1616 (1938).

1. Die Diureseanregung beginnt mit Coffein. subcutan verabreicht bei 15 mg/200 g Ratte (Abb. 4 und 5), mit Coffein per os ziemlich eindeutig bei 10 mg/200 g Ratte.

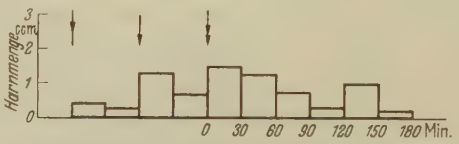


Abb. 4. Subcutane Injektion von 10 mg Coffeinum purum pro 200 g Ratte. Harnmenge in 60 Minuten nach ⚷: 2,8 ccm. Harnmenge in 180 Minuten nach ⚷: 5,1 ccm.

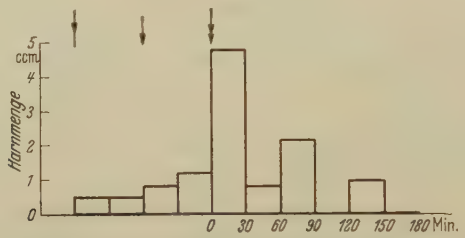


Abb. 5. Subcutane Injektion von 15 mg Coffeinum purum pro 200 g Ratte. Harnmenge in 60 Minuten nach ⚷: 5,6 ccm. Harnmenge in 180 Minuten nach ⚷: 8,8 ccm.

2. Mit chlorogensaurem Kalicoffein, subcutan oder per os gegeben, kommt die Diureseanregung schon mit Dosen von 5 mg Coffein/200 g Ratte zustande (Abb. 6 und 7). Die Chlorogensäure ist auch in hohen Dosen diuretisch völlig unwirksam.

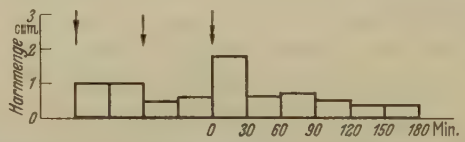


Abb. 6. Subcutane Injektion von 10 mg chlorogensaurem Kalicoffein pro 200 g Ratte (entspricht 3,3 mg Coffeinum purum pro 200 g Ratte). Harnmenge in 60 Minuten nach ⚷: 2,4 ccm. Harnmenge in 180 Minuten nach ⚷: 4,2 ccm.

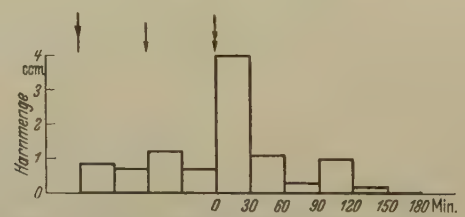


Abb. 7. Subcutane Injektion von 15 mg chlorogensaurem Kalicoffein pro 200 g Ratte (entspricht 5 mg Coffeinum purum pro 200 g Ratte). Harnmenge in 60 Minuten nach ⚷: 5,1 ccm. Harnmenge in 180 Minuten nach ⚷: 6,6 ccm.

3. Die Werte für Coffeinum Natrium salicylicum subcutan und per os gegeben liegen bei 10 mg/200 g Ratte, also zwischen denen des Coffeins und des chlorogensauren Kalicoffeins.

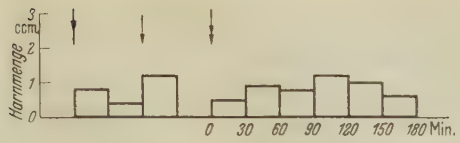


Abb. 8. Subcutane Injektion von 15 mg Coffeinum Natrium salicylicum pro 200 g Ratte (entspricht 7,5 mg Coffeinum purum pro 200 g Ratte). Harnmenge in 60 Minuten nach ☿ : 1,4 ccm. Harnmenge in 180 Minuten nach ☿ : 4,9 ccm.

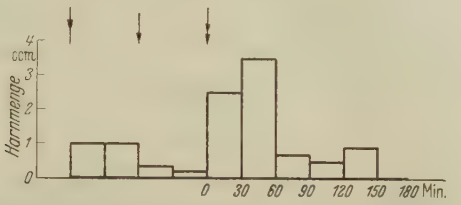


Abb. 9. Subcutane Injektion von 20 mg Coffeinum Natrium salicylicum pro 200 g Ratte (entspricht 10 mg Coffeinum purum pro 200 g Ratte). Harnmenge in 60 Minuten nach ☿ : 6,0 ccm. Harnmenge in 180 Minuten nach ☿ : 8,1 ccm.

4. Bei der Untersuchung der Rattenharne auf Coffein konnten wir das bei den Kaninchen gefundene Resultat bestätigen. Die Coffeinausscheidung bei Verwendung von Coffeinum purum betrug während der Versuchsdauer 1—2 %, mit chlorogensaurem Kalicoffein betrug sie 12—18 % die Chlorogensäureausscheidung bis 36,5 %.

Ergebnis.

1. Die diuretisch wirksame Grenzdosis des chlorogensauren Kalicoffeins ist um das zwei- bis dreifache niedriger als die von Coffeinum purum und Coffeinum Natrium salicylicum.

2. Die Coffeinausscheidung im Rattenharn liegt bei Verwendung von chlorogensaurem Kalicoffein bis zum zehnfachen Betrag über der Coffeinausscheidung bei Verwendung von Coffeinum purum.

3. Die Chlorogensäureausscheidung beträgt bis zu 36 % der Einnahme.

Besprechung.

Von Schröder[14] hat als erster den Angriffspunkt der Purinkörperdiuretika am Nierenepithel bewiesen. Auf die Tatsache, daß in gewissen Grenzen ein Parallelismus besteht zwischen Größe der Coffeinausscheidung und Diureseanregung, wurde schon mehrfach in der Literatur hingewiesen. Für unsere Grenzdosen besagt dies: Je schneller eine bestimmtwertige Coffeinkonzentration an die Niere kommt, d. h. je weniger Coffein auf dem Wege zur Niere verloren geht, desto rascher setzt die Diureseanregung ein.

[14] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **22**, 39 (1886).

Die Differenz im diuretischen Effekt der drei wirksamen Substanzen dürfte folgende Erklärung haben:

Reines Coffein, subcutan gegeben, wird langsam und unregelmäßig resorbiert, verweilt im Organismus, wird entmethyliert und gelangt daher erst bei Anwendung verhältnismäßig hoher Dosen in wirksamer Grenzkonzentration zur Niere; Coffein per os wird rasch resorbiert, fast ebenso rasch wie das Coffeinum Natrium salicylicum, bleibt dann allerdings auch in den Organen liegen, während das Chlorogenat Coffein sofort zur Niere mitnimmt und daher genügt eine zwei- bis dreifach kleinere Coffeindosis in der Form des Chlorogenats, der natürlichen Coffeinverbindung der Bohne, um die wirksame Grenzkonzentration zu liefern.

III.

Die Diureseversuche wurden auf den Menschen übertragen. Die Versuchspersonen lebten in der Versuchsperiode coffeinfrei, bekamen am Versuchstag früh $^1/_2$7 Uhr $^1/_4$ Liter Milch und ein Weißbrot und 2—3 Stunden später zu Beginn des Versuchs nach vollständiger Blasenentleerung 200 ccm Wasser oder 200 ccm einer Lösung von Coffeinum purum oder von chlorogensaurem Kalicoffein oder 200 ccm Kaffeeabsud. Die Blase wurde halbstündig entleert, die Harnmenge und ihr spezifisches Gewicht festgestellt. Der Versuch wurde abgebrochen, wenn die Diurese auf 30—40 ccm pro $^1/_2$ Stunde gesunken war, bzw. das spezifische Gewicht des Harns 1,010 überschritt. Zwischen den Diureseversuchen lagen versuchsfreie Tage.

Versuche.

Es folgen die Angaben von einer Versuchsperson.

1. Versuchsperson 65 kg, 9^{45} 200 ccm Wasser getrunken. Ausscheidung:

Zeit	Harnmenge in ccm	Spezifisches Gewicht
9^{15}— 9^{45}	45,0	1,020
9^{45}—10^{15}	57,0	1,0175
10^{15}—10^{45}	36,0	1,015
10^{45}—11^{15}	31,0	1,025

2. Versuchsperson 65 kg, 10^{00} 200 ccm Wasser + 200 mg Coffein getrunken. Ausscheidung:

Zeit	Harnmenge in ccm	Spezifisches Gewicht
9^{30}—10^{00}	45,0	1,015
10^{00}—10^{30}	45,0	1,0125
10^{30}—11^{00}	25,0	1,015
11^{00}—11^{30}	20,0	1,015

3. Versuchsperson 65 kg, 9^{15} 200 ccm Wasser + 300 mg Coffein getrunken. Ausscheidung:

Zeit	Harnmenge in ccm	Spezifisches Gewicht
9^{15}— 9^{45}	33,0	1,0125
9^{45}—10^{15}	119,0	1,0075
10^{15}—10^{45}	65,0	1,010
10^{45}—11^{15}	72,0	1,0075
11^{15}—11^{45}	62,0	1,0075
11^{45}—12^{15}	33,0	1,015

4. Versuchsperson 65 kg, 9^{15} 200 ccm Wasser + 150 mg chlorogensaures Kalicoffein (50 mg Coffein enthaltend) getrunken. Auscheidung:

Zeit	Harnmenge in ccm	Spezifisches Gewicht
9^{15}— 9^{45}	47,0	1,0125
9^{45}—10^{15}	42,0	1,0075
10^{15}—10^{45}	36,0	1,0125
10^{45}—11^{15}	23,0	1,0125

5. Versuchsperson 65 kg, 9^{15} 200 ccm Wasser + 300 mg chlorogensaures Kalicoffein (100 mg Coffein enthaltend) getrunken. Ausscheidung:

Zeit	Harnmenge in ccm	Spezifisches Gewicht
9^{15}— 9^{45}	95,0	1,0025
9^{45}—10^{15}	164,0	1,0025
10^{15}—10^{45}	71,0	1,005
10^{45}—11^{15}	32,0	1,010
11^{15}—11^{45}	32,0	1,015

6. Versuchsperson 65 kg, 9^{00} 200 ccm Wasser + 600 mg chlorogensaures Kalicoffein (200 mg Coffein enthaltend) getrunken. Ausscheidung:

Zeit	Harnmenge in ccm	Spezifisches Gewicht
9^{00}— 9^{30}	64,0	1,010
9^{30}—10^{00}	107,0	1,0075
10^{00}—10^{30}	45,0	1,0075
10^{30}—11^{00}	85,0	1,005
11^{00}—11^{30}	54,0	1,0075
11^{30}—12^{00}	31,0	1,015

7. Bei einer zweiten Versuchsperson trat die Diureseanregung mit 150 mg Coffein als chlorogensaures Kalicoffein auf.

8. Versuchsperson 65 kg, 9^{30} 200 ccm Kaffeeabsud (150 mg Coffein als chlorogensaures Kalicoffein enthaltend) getrunken. Ausscheidung.

Zeit	Harnmenge in ccm	Spezifisches Gewicht
9^{30}—10^{00}	78,0	1,005
10^{00}—10^{30}	120,0	1,0025
10^{30}—11^{00}	63,0	1,0025
11^{00}—11^{30}	44,0	1,010
11^{30}—12^{00}	28,0	1,0125

Ergebnis.

1. Am erwachsenen Menschen (65—85 kg) wirken 300 mg Coffeinum purum diureseanregend.

2. Für chlorogensaures Kalicoffein liegen die diuretisch wirksamen Grenzdosen bei 300—450 mg = 100—150 mg Coffein.

3. Der diuretisch wirksame Kaffeeabsud enthält 150 mg Coffein und 0,5 g Chlorogensäure.

Zusammenfassung.

Die Chlorogensäure bewirkt im chlorogensauren Kalicoffein eine Entgiftung des Coffeins um rund 50%, sie steigert den diuretischen Effekt des Coffeins auf das zwei- bis dreifache, beide Wirkungen dadurch bedingt, daß das chlorogensaure Kalicoffein rascher zur Niere wandert als Coffeinum purum, ein Vorgang, der einerseits die Anhäufung des Coffeins im Organismus zur tödlichen Dosis verzögert, und andererseits die diuretisch wirkende Konzentration Coffein rasch und sicher zur Niere bringt.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Leipzig.
(Direktor: Prof. Bürger.)

Über den Nachweis von Methämoglobin und Cyanmethämoglobin im strömenden Blut.

Von
K. Matthes und F. Gross.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. November 1938.)

Die fortlaufende Registrierung der Lichtabsorption des Blutes in zwei verschiedenen Spektralbezirken (rot und ultrarot) mit Photozellen ermöglicht es, Änderungen der Farbe des strömenden Blutes fortlaufend und quantitativ zur Darstellung zu bringen. Hängt die Farbe des Blutes nicht von mehr als zwei unabhängigen Variablen ab, so kann man die Änderungen der absoluten und relativen Konzentration der die Farbe des Blutes bedingenden Derivate des Blutfarbstoffes aus der Kurve der Lichtabsorption des strömenden Blutes in den beiden Spektralbezirken ermitteln. So konnten Änderungen der Sauerstoffsättigung und des Gesamthämoglobingehaltes des strömenden venösen und arteriellen Blutes beim Hunde gleichzeitig dargestellt und voneinander unterschieden werden (Matthes und Gross[1, 2]). Ferner konnte der Verlauf einer Kohlenoxydvergiftung beim Hunde bei gleichzeitigen Änderungen der Sauerstoffsättigung des Blutes dargestellt werden, es mußte dabei allerdings Konstanz des Gesamthämoglobingehaltes (der dritten Variablen) während der CO-Vergiftung angenommen werden (Matthes und Gross[3]).

Es liegt nun nahe, auch die Entstehung und das Verschwinden von anderen pathologischen Blutfarbstoffen im strömenden Blut mit dieser Methode zu untersuchen. Wir haben uns in erster Linie mit dem Methämoglobin, in zweiter Linie mit Cyanmethämoglobin und Sulfhämoglobin beschäftigt. Voraussetzung für die richtige Deutung der Lichtabsorptionskurven von strömendem Blute, in dem möglicherweise die genannten pathologischen Derivate des Blutfarbstoffes vorkommen, ist natürlich die Kenntnis der Lichtextinktion des Blutes, nachdem das Hämoglobin möglichst vollständig in die entsprechenden Formen überführt worden ist. Dabei interessiert nicht so sehr die Lichtabsorption von Hämoglobinlösungen als die des nativen Blutes, wenn der pathologische Blutfarbstoff in den unversehrten Erythrocyten auftritt. Ein derartiges Auftreten des pathologischen Farbstoffes in unversehrten Erythrocyten ist bei allen

[1—3] Matthes u. Gross: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 369, 381, 391 (1939).

drei genannten Farbstoffen sowohl in vivo als auch in vitro möglich. Es ist aber bei allen drei Blutfarbstoffen nicht möglich, mit Sicherheit den Farbstoff völlig rein in den unverletzten Blutzellen zu erhalten. Sulfhämoglobin ist sogar in Lösung niemals völlig rein dargestellt worden.

Hohe Konzentrationen der genannten pathologischen Blutfarbstoffe in unversehrten Erythrocyten neben Oxyhämoglobin erhielten wir, indem wir Citratblut mit 2% $NaNO_2$ Lösung (Methämoglobin) und 2% $NaNO_2$ + 2% KCN (Cyanmethämoglobin) versetzten und die Mischung mit Luft 1 Stunde lang in einem 300 ccm fassenden Tonometer äquilibrierten. Sulfhämoglobin wurde durch Äquilibrierung von Blut mit einer Mischung von Luft + 20% H_2S im Tonometer bereitet. Der Gehalt der Blutprobe an Methämoglobin bzw. Cyanmethämoglobin wurde ermittelt, indem wir das aktive Hämoglobin mit der von Peters und van Slyke[4] beschriebenen CO-Bindungsmethode im van Slykeschen Apparat bestimmten; mit der gleichen Methode wurde das CO-Bindungsvermögen der ursprünglichen Blutprobe ermittelt. Beim Sulfhämoglobin wurde ein Versuch einer quantitativen Bestimmung nicht gemacht, sondern nur die Richtung der Farbänderung bestimmt.

Tabelle 1 gibt die Lichtdurchlässigkeit von so bereiteten Blutproben im roten und ultraroten Licht wieder, die angegebenen Extinktionen beziehen sich auf eine Schichtdicke von 1,5 mm.

Tabelle 1.

	CO-Bindungsvermögen des Blutes Vol.%	Lichtextinktion des Blutes ($\log J_0/J_1$)	
		Rot Sperrschichtphotozelle Br. Lange ohne Filter	Ultrarot Phonopreßzelle spez. 1 mit Agfa-Ultrarotfilter 83
Oxyhämoglobin, 40 ccm Blut + 6 ccm phys. NaCl-Lösung	13,9	1,13	1,18
Red.-Hb, dasselbe reduziert mit $Na_2S_2O_7$		1,93	1,01
Methämoglobin, 40 ccm Blut + 3 ccm NaCl-Lösung + 3 ccm 2%ige $NaNO_2$-Lösung	0,75	1,79	1,49
(Oxyhämoglobin) 40 ccm Blut + 3 ccm NaCl-Lösung + 3 ccm 2%ige KCN-Lösung	14,0	1,15	1,20
Cyanmethämoglobin, 40 ccm Blut + 3 ccm $NaNO_2$-Lösung + 3 ccm 2%ige KCN-Lösung	1,0	1,34	0,68
Sulfhämoglobin, 40 ccm Blut + 6 ccm NaCl-Lösung + 20%iges H_2S-Gas	—	2,47	1,25
Kohlenoxydhämoglobin, 40 ccm Blut + 6 ccm NaCl-Lösung + CO-Gas	—	0,94	0,53

[4] Peters u. van Slyke: Quantitative clinical. chemistry Methods. London 1932.

Man sieht aus dieser Tabelle, daß beim Übergang von Oxyhämoglobin zu Methämoglobin die Lichtdurchlässigkeit sowohl im roten als auch im ultraroten Licht abnimmt, beim Übergang von reduziertem Blut zu Methämoglobin dagegen nimmt die Lichtdurchlässigkeit im roten Licht zu, im ultraroten Licht ab. Geht eine Mischung von reduziertem und oxydiertem Blute teilweise in Methämoglobin über, so ist im ultraroten Licht immer eine Abnahme der Lichtdurchlässigkeit zu erwarten, im roten Licht dagegen kann die Lichtdurchlässigkeit zunehmen oder abnehmen, je nachdem ob die Methämoglobinbildung mehr auf Kosten des Oxy-Hb oder des Red.-Hb erfolgt.

Der Übergang von Oxy-Hb und Red.-Hb zu Cyanmethämoglobin braucht nicht besprochen zu werden, da er niemals weder in vitro noch in vivo direkt stattfindet. Geht Methämoglobin in Cyanmethämoglobin über, so nimmt die Lichtdurchlässigkeit des Blutes in beiden Spektralbezirken zu.

Die Bildung von Sulfhämoglobin aus Oxy-Hb würde eine starke Abnahme der Lichtdurchlässigkeit im Rot zur Folge haben, während im Ultrarot sich wenig ändert. Bei der Bildung von Sulfhämoglobin aus Red.-Hb würde sowohl im Rot als auch im Ultrarot die Lichtdurchlässigkeit abnehmen.

Der Übergang von Oxy-Hb in Red.-Hb, sowie der Übergang von Oxy-Hb und Red.-Hb in CO-Hb ist in früheren Arbeiten ausführlich behandelt worden.

Tierversuche wurden an 20—30 kg schweren Hunden ausgeführt, die sich in Morphin-Pernoctonnarkose befanden. Es wurde die Lichtdurchlässigkeit des arteriellen Blutes und des Blutes im rechten Vorhof fortlaufend je mit einer rotempfindlichen und ultrarotempfindlichen Photozelle registriert. Daneben wurde Blutdruck und Atmung aufgezeichnet. Die Methodik wurde in einer früheren Arbeit (Matthes und Gross[2]) ausführlich beschrieben. Abb. 1 zeigt die Lichtdurchlässigkeit des Blutes während einer kurzdauernden Atmung von Amylnitrit. Ein mit etwa 1 ccm Amylnitrit getränkter Tupfer wurde für einige Zeit (in der Abbildung durch die Marken bezeichnet) in die Trachealkanüle des Hundes gesteckt.

Man sieht, daß zunächst die Lichtdurchlässigkeit des arteriellen Blutes sowohl im roten als im ultraroten Licht stark abnimmt; mit dem Aufhören der Amylnitritatmung nimmt die Lichtdurchlässigkeit des Blutes wieder langsam zu; sie erreicht aber auch nach mehreren Minuten nicht den Ausgangswert. Diese Abnahme der Lichtdurchlässigkeit des Blutes nach Amylnitritatmung kann nur durch Methämoglobinbildung erklärt werden; Änderungen der Sauerstoffsättigung des Blutes würden bei Abnahme der Lichtdurchlässigkeit im roten Licht eine Zunahme der Lichtdurchlässigkeit im Ultrarot bewirken; eine Zunahme des Gesamthämoglobins in diesem Ausmaße wurde nie beobachtet, sie würde auch nicht zuerst im arteriellen Blut auftreten. Bei Methämoglobinbildung

in der Lunge ist aber gerade das zu erwarten, was Abb. 1 wiedergibt, wie ein Blick auf Tabelle 1 lehrt. 10 Sekunden nach Beginn des Auftretens des Methämoglobins im Blut, etwa gleichzeitig mit dem Absinken des Blutdrucks, beginnt auch die Lichtdurchlässigkeit des Blutes im rechten Vorhof abzusinken, die Abnahme ist in der Ultrarotkurve deutlicher ausgesprochen als in der Rotlichtkurve. Das Methämoglobin ersetzt im venösen Blut teilweise Oxy-Hb, teilweise Red.-Hb, beide Vorgänge haben nach Tabelle 1 einen entgegengesetzten Effekt auf die Lichtdurchlässigkeit im Rot, eine gleichsinnige Wirkung (Abnahme) auf die Lichtdurchlässigkeit

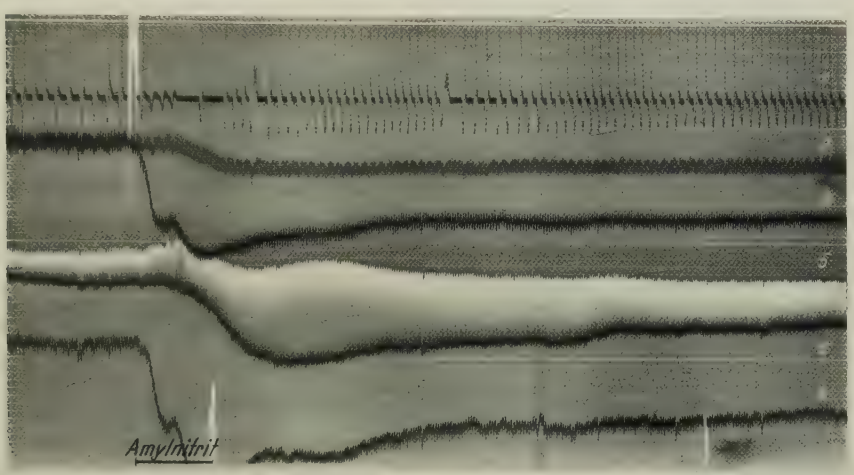


Abb. 1. Inhalation von Amylnitrit (Bildung von Methämoglobin). 1 Atmung; 2 Blutdruck; 3 arterielles Blut, Rotlicht; 4 arterielles Blut, Ultrarotlicht; 5 Blut des rechten Vorhofs, Rotlicht; 6 Blut des rechten Vorhofs, Ultrarotlicht. Zeitordinatenabstand = 10 Sek.

im Ultrarot. Die Abweichungen, die der Verlauf der venösen Rotlichtkurve von dem der venösen Ultrarotlichtkurve zeigt, lassen sich leicht durch Schwankungen der Sauerstoffsättigung des Teiles des Hämoglobins erklären, der noch nicht in Methämoglobin umgewandelt ist. In der Mehrzahl der Versuche zeigt die Rotlichtkurve des Vorhofblutes nach Amylnitritatmung eine Abnahme, eine Zeichen, daß die Bildung von Methämoglobin aus O_2-Hb in ihrem optischen Effekt die Bildung aus Red.-Hb überwiegt. Bei zwei Versuchen haben wir jedoch das Gegenteil beobachtet: Geringe Zunahme der Vorhofrotlichtkurve bei starker Abnahme der Ultrarotkurve. Im arteriellen Blut ist neben Methämoglobin nur ein Farbstoff Oxyhämoglobin vorhanden, daher verlaufen Ultrarot- und Rotlichtkurve stets völlig gleichartig.

Bei Amylnitritatmung entsteht also in der Lunge Methämoglobin, das zuerst im arteriellen Blut, später auch im Blut des rechten Vorhofs nachweisbar ist. Nach Absetzen der Amylnitritatmung nimmt die Konzentration des Methämoglobins im arteriellen und später im venösen Blut

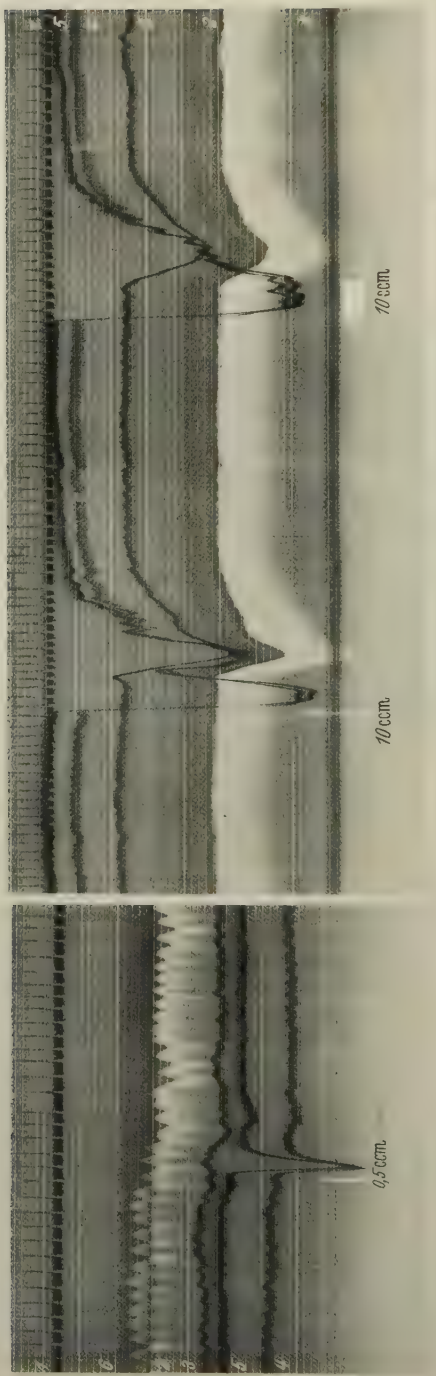


Abb. 2. Intravenöse Injektionen von 2% $NaNO_2$-Lösung. 1. Injektion bei Versuchsbeginn. 2. und 3. Injektion gegen Versuchsende. 3. Injektion sehr langsam injiziert. Dauer der Injektion durch Breite der Marke wiedergegeben. 1 Atmung; 2 Rotlicht, arterielles Blut; 3 Ultrarotlicht, arterielles Blut; 4 Rot, Blut des rechten Vorhofes; 5 Ultrarot, Blut des rechten Vorhofes; 6 Blutdruck.

zuerst schnell, später sehr langsam ab. Es kann nicht entschieden werden, wieweit die anfangs schnelle Abnahme der Methämoglobinkonzentration des Blutes auf die noch unvollständige Mischung des Blutes oder auf Methämoglobinzerstörung zurückzuführen ist.

Am Menschen wurden entsprechende Untersuchungen durchgeführt, mit dem Ziel, nachzuweisen, ob in therapeutischen Dosen eingeatmetes Amylnitrit zu einer nachweisbaren Methämoglobinbildung führt. Zu diesem Zweck wurde an einem histaminisierten Ohrläppchen ein Plethysmogramm nach der von Matthes[5] beschriebenen Methode registriert; gleichzeitig wurde der obere Teil der Ohrmuschel ebenfalls histaminisiert und mit einer wassergekühlten 25-Watt-Lampe durchleuchtet. Das von der Ohrmuschel durchgelassene Licht wurde wie bei den Tierexperimenten mit einer rotempfindlichen und einer ultrarotempfindlichen Photozelle registriert. Die Versuchsperson atmete drei tiefe Atemzüge unmittelbar über einem Wattetupfer, der mit $^1/_2$ ccm Amylnitrit getränkt war. Es kommt dabei zu einer starken Abnahme des Blutgehalts des

[5] Matthes: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 631 (1936).

histaminisierten Ohres infolge des Abfalls des Blutdrucks. Gleichzeitig nimmt die Lichtdurchlässigkeit des Ohres sowohl im roten als auch im ultraroten Licht zu. Die Plethysmogrammkurve und die beiden Durchleuchtungskurven verliefen in der Mehrzahl der Versuche völlig parallel, dies entspricht also einer reinen Änderung des Blutgehaltes des Ohres, ohne eine nachweisbare Farbänderung des Blutes, die durch Methämoglobin bedingt sein könnte. Nur in einem Versuch, in dem eine besonders starke Dosis Amylnitrit eingeatmet wurde, kam es nach anfänglicher Abnahme des Blutgehaltes mit Zunahme der Lichtdurchlässigkeit zu einer Abnahme der beiden, die Lichtdurchlässigkeit darstellenden Kurven, der keine entsprechende Zunahme des Blutgehaltes entsprach.

Demnach scheint beim Menschen nach Inhalation von sehr großen Mengen Amylnitrit ebenfalls Methämoglobin aufzutreten, bei den üblichen therapeutischen Dosen kommt es aber, wie die überwiegende Zahl unserer negativen Versuche beweist, beim Gesunden wohl nie zu einer nachweisbaren Methämoglobinbildung.

Im Tierexperiment haben wir die Wirkung von intravenös injiziertem Natriumnitrit untersucht. Abb. 2 zeigt die Wirkung von mehreren intravenösen Injektionen von $NaNO_2$. Die erste Injektion wurde ganz im Beginn des Versuchs gemacht, als noch kein Methämoglobin im Blut vorhanden war. Unmittelbar nach der Injektion, die in die linke Vena jugularis erfolgte (in den von der Zirkulationspumpe zur Vena jugularis fließenden Blutstrom), kommt es zu einer starken vorübergehenden Abnahme der Lichtdurchlässigkeit des Blutes im rechten Vorhof in beiden Spektralbezirken. Methämoglobin entsteht also augenblicklich, wenn Blut und Nitritlösung zusammenkommen. Einige Sekunden später sieht man eine geringere Abnahme der Lichtdurchlässigkeit des arteriellen Blutes (rot und ultrarot), die nicht von einer Rückkehr auf den Ausgangswert gefolgt ist. Auch die Lichtdurchlässigkeit des Vorhofblutes erreicht, nachdem der initiale Abfall vorbei ist, nicht wieder den Ausgangswert. Die beiden nächsten Injektionen sind gegen Ende des Versuchs gemacht, nachdem das Tier mehrfach Amylnitrit geatmet hatte und reichlich Methämoglobin im Blute hatte. Die erste dieser Injektionen wurde sehr schnell gemacht, die zweite dauerte 12 Sekunden. Bei der letzten Injektion sieht man ebenfalls zunächst die Abnahme der Lichtdurchlässigkeit im Vorhofblut, dann 12 Sekunden später beginnt die Abnahme der Lichtdurchlässigkeit des arteriellen Blutes. Sowohl die Lichtdurchlässigkeit des Vorhofblutes als auch die des arteriellen Blutes kehrt aber nach einigen Sekunden fast wieder zum Ausgangswert zurück. Ob dies auf einer schnelleren Zerstörung des Methämoglobins beruht, oder ob nur der optische Effekt so viel geringer ist, wenn das neuentstandene Methämoglobin sich zu der großen Menge von schon im Blute vorhandenem Methämoglobin hinzuaddiert, kann nicht mit Sicherheit entschieden werden. Immerhin ist es auffällig, daß durch Amylnitritatmung gebildetes Methämoglobin stets eine dauernde nicht

nur vorübergehende Abnahme der Lichtdurchlässigkeit des Blutes bedingt. Injiziert man das Natriumnitrit sehr rasch, so ist die unmittelbar im Blute erreichte Menge Methämoglobin (jedenfalls bei der in diesem Versuch verwandten großen Menge $NaNO_2$) kaum größer als bei langsamer Injektion. Auffallend ist, daß die Lichtdurchlässigkeit des Vorhofblutes nach der ersten Abnahme noch eine zweite Zacke im Sinne einer Abnahme zeigt. Augenscheinlich handelt es sich um rezirkuliertes Methämoglobin bzw. $NaNO_2$. Die Beachtung der zeitlichen Verhältnisse (zweite Vorhofzacke erscheint gleichzeitig bzw. etwas vor der Abnahme der Lichtdurchlässigkeit des arteriellen Blutes) läßt es aber als wahrscheinlich erscheinen, daß die Rezirkulation durch den Pumpenkreislauf, nicht durch den natürlichen Kreislauf erfolgt ist. (Für die nach der allerersten Injektion aufgetretene entsprechende Zacke muß diese Frage offen bleiben.)

Einem 24 kg schweren Hund wurden intravenös 10 mg KCN injiziert. Es kam zu einer kurzdauernden Hyperventilation, der eine Atemlähmung folgte. Starker Blutdruckanstieg mit Vaguspulsen. Im arteriellen Blut fand sich während der Hyperventilation eine Zunahme der O_2-Sättigung (Zunahme der Rotlicht-, geringe Abnahme der Ultrarotlichtkurve). Im Vorhofblut nahm ebenfalls anfangs Lichtdurchlässigkeit im roten Licht zu, im ultraroten Licht ab (Zunahme der Sauerstoffsättigung infolge Oxydationshemmung). Nach Eintritt der Atemlähmung nahm die arterielle O_2-Sättigung stark ab, die O_2-Sättigung des Venenblutes blieb unverändert. Es findet sich also bei der HCN-Vergiftung kein Anzeichen für die Bildung eines pathologischen Blutfarbstoffs, die beobachteten Farbänderungen des Blutes lassen sich durch Schwankungen der Sauerstoffsättigung erklären. Ebenso kommt es in vitro bei Mischung von Blut mit HCN-Lösung bekanntlich nicht zur Bildung eines pathologischen Blutfarbstoffes (Tabelle 1).

Das Bild ist völlig anders, wenn einem Hund, der vorher mit Nitriten vergiftet, also eine Methämoglobinämie hat, Cyanid injiziert wird.

Abb. 3 zeigt einen derartigen Versuch. Sofort nach der Injektion nimmt die Lichtdurchlässigkeit des Blutes im rechten Vorhof in beiden Spektralbezirken stark zu. Dieser vorübergehenden Zunahme folgt einige Sekunden später noch eine „Rezirkulationszacke". Auch die Lichtdurchlässigkeit des arteriellen Blutes nimmt etwa 8 Sekunden später vorübergehend deutlich zu. Dieses Verhalten der Lichtdurchlässigkeit des Blutes wird leicht durch die Annahme erklärt, daß sich im Moment des Zusammentreffens des Blutes mit der Cyankalilösung (also in der Vena jugularis) aus dem im Blute vorhandenen Methämoglobin Cyanmethämoglobin bildet (vgl. Tabelle 1). Diese Reaktion findet also in vivo genau so wie in vitro statt. Eine Zunahme der Lichtdurchlässigkeit in beiden Spektralbezirken könnte auch auftreten, wenn sich das im Blute vorhandene Methämoglobin in Oxy-Hb verwandelte. Unter den Bedingungen unseres Versuchs (Zusammentreffen von methämoglobinhaltigem Blut mit KCN-

Lösung in der Vena jugularis) ist aber die Bildung von Cyanmethämoglobin viel wahrscheinlicher.

Die Ultrarotkurven erreichen beide nach den Ausschlägen das ursprüngliche Niveau nicht völlig wieder, die durch das KCN verursachte Veränderung der Blutfarbe bleibt also eine Zeitlang bestehen. Auffallend ist, daß das Cyanid für den vorher mit Methämoglobin vergifteten Hund weniger schädlich ist als für den normalen Hund. Der normale 24 kg schwere Hund starb nach 10 mg KCN in 10 Minuten, der vorher mit methämoglobinbildenden Giften behandelte Hund (26 kg) vertrug vier Injektionen à 20 mg KCN ohne große Reaktion von Blutdruck und Atmung (siehe Abb. 3), erst nach einer Injektion von 100 mg KCN trat der Tod ein. Durch die Bindung des Cyanids an das Methämoglobin wird also scheinbar seine Giftigkeit vermindert.

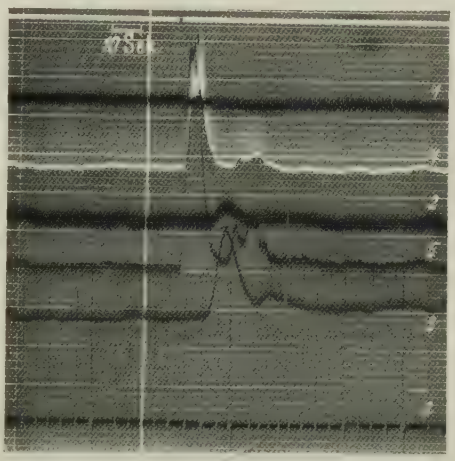


Abb. 3. Injektion von 20 mg KCN bei der Marke (Aussparung im oberen weißen Strich) bei einem mit Methämoglobin bildenden Stoffen vergifteten Hund. 1 Blutdruck; 2 Rotlicht, arterielles Blut; 3 Ultrarotlicht, arterielles Blut; 4 Rotlicht, Blut des rechten Vorhofs; 5 Ultrarotlicht, Blut des rechten Vorhofs; 6 Atmung.

Über die Möglichkeit der Bildung von Sulfhämoglobin in vivo haben wir nur einen Versuch angestellt. Der 29 Kilo schwere Hund atmete aus einem Sack 2 Minuten lang Luft mit einem halben Volumprozent Schwefelwasserstoff. Es trat zunächst eine Hyperventilation ein, die Lichtdurchlässigkeit des arteriellen Blutes im roten Licht nahm zu, im ultraroten Licht nahm sie entsprechend ab (erklärbar durch Zunahme der arteriellen Sauerstoffsättigung infolge der Hyperventilation). Die Lichtdurchlässigkeit des Blutes im rechten Vorhof blieb dabei unverändet. Gegen Ende der H_2S-Atmung nahm auch die O_2-Sättigung des Vorhofblutes beträchtlich zu (Abnahme der Ultrarotkurve; Zunahme der Rotlichtkurve). Die Zunahme war so groß, daß sie nicht als eine Folge der Besserung der arteriellen O_2-Sättigung erklärt werden kann. Wahrscheinlich handelt es sich um eine Hemmung der O_2-Aufnahme in den Geweben. Gleichzeitig kam es zu einem Blutdruckanstieg mit Vaguspulsen und einer sehr starken Verlangsamung der Atmung, die Schwefelwasserstoffatmung wurde abgesetzt. Die Lichtdurchlässigkeit des arteriellen Blutes zeigte jetzt deutliche respiratorische Schwankungen (Abnahme der Rotlichkurve, Zunahme der Ultrarotkurve im Atemstillstand entsprechend der Abnahme der arteriellen Sauerstoffsättigung). Nach weiteren 2 Minuten trat völlige Atemlähmung,

Blutdruckabfall und der Tod ein. Bei Bildung von Sulfhämoglobin wäre zu erwarten gewesen, daß noch während der H_2S-Atmung die Rotlichtkurve des arteriellen Blutes bei gleichbleibender Ultrarotkurve eine starke Abnahme gezeigt hätte. Dies war nicht der Fall, die Änderungen der Lichtdurchlässigkeit des Blutes während der ganzen H_2S-Vergiftung ließen sich vielmehr völlig durch die nach dem Atemtyp zu erwartenden Schwankungen der Sauerstoffsättigung erklären. Bei der von uns beobachteten schnell tödlichen Schwefelwasserstoffvergiftung gab es also keine Sulfhämoglobinämie. Wurde Blut des Hundes mit der H_2S-Mischung, die der Hund geatmet hatte, im Tonometer geschüttelt, so bildete sich Sulfhämoglobin; es dauerte aber mehrere Minuten bis eine nachweisbare Konzentration erreicht war.

Zusammenfassung.

Die gleichzeitige Aufzeichnung der Lichtabsorption des Blutes in zwei verschiedenen Spektralbezirken (rot und ultrarot) ermöglicht es, alle Änderungen der Blutfarbe im strömenden Blut lebender Versuchstiere fortlaufend aufzuzeichnen. So konnte die Bildung von Methämoglobin bei der Atmung von Amylnitrit und bei der Injektion von $NaNO_2$ im arteriellen Blut und im Blut des rechten Vorhofs bei Hunden fortlaufend registriert werden.

Das Methämoglobin entsteht augenblicklich beim Zusammentreffen des Blutes mit der giftigen Substanz, also bei Amylnitritatmung in der Lunge, bei intravenöser Injektion in der Vene, in die gespritzt wurde. Wird ein Hund, dessen Blut reichlich Methämoglobin enthält, nachträglich mit Cyankali (intravenös) vergiftet, so bildet sich im Blut sofort Cyanmethämoglobin, das Cyankali wird dadurch teilweise entgiftet.

Bei tödlicher Vergiftung eines Hundes durch 90 Sekunden lange Atmung von H_2S (ein halbes Volumprozent H_2S in der Inspirationsluft) bildete sich im Blut kein nachweisbares Sulfhämoglobin.

Beim Menschen konnte bei der Atmung von Amylnitrit in therapeutischen Dosen eine Bildung von Methämoglobin im Blut nicht nachgewiesen werden.

Aus der Chirurgischen Universitätsklinik, Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. E. Rehn.)

Über Beziehungen des Vitamins E zur Ovarial- und Schilddrüsenfunktion*.

Von
Dr. phil. habil. **Chr. Bomskov** und Prof. **Erich Schneider.**

Mit 13 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. Dezember 1938.)

Einleitung.

Die systematischen Untersuchungen der letzten Jahre (Schneider[1]) haben bei den durchuntersuchten experimentellen Avitaminosen eine Herabsetzung der Schilddrüsenfunktion aufgezeigt. Dies gilt für die Avitaminose-A (Schneider[2]), B_1 (Schneider[3]), C (Schneider[4]) und D (Haase[5]). Es erschien daher zunächst die Annahme gerechtfertigt, diese den verschiedenen Avitaminosen gemeinsame Rückwirkung auf die Schilddrüsentätigkeit auf eine zentrale Störung mit Unterfunktion der Hypophyse zurückzuführen, zumal die Ansprechbarkeit der Schilddrüse auf thyreotropes Hormon immer erhalten war. Da nun alle diese Avitaminosen letzten Endes in verhältnismäßig kurzer Zeit zum Exitus führen, und es sich in keinem Falle der untersuchten Tiere um ausgewachsene Exemplare handelt, sondern um Tiere, bei denen eine mehr oder minder starke Wachstumshemmung vorliegt, ist es aber nicht ohne weiteres möglich, die Ausfallserscheinungen von seiten der Schilddrüse lediglich auf die primäre Ursache eines Vitaminmangels zurückzuführen. Die bei den genannten Avitaminosen auftretenden allgemeinen Stoffwechselstörungen, zu denen noch in den meisten Fällen ein mehr oder minder starker Hungerzustand hinzutritt, können ohne weiteres eine gewisse Änderung in der Funktion der Schilddrüse herbeiführen. Es ist somit keinesfalls erwiesen, daß es sich bei den Schilddrüsenveränderungen der bisher untersuchten Avitaminosen wirklich um primäre Erscheinungen eines reinen Vitaminmangels handelt.

Gerade unter diesen Gesichtspunkten müßte das Krankheitsbild, wie es bei der E-Avitaminose entsteht, besondere Vorteile für das Studium der Rückwirkung dieser Avitaminose auf die Schilddrüse bieten. Be-

* Ausgeführt mit Unterstützung der Freiburger Wissenschaftlichen Gesellschaft.

[1] Schneider: Internationale Kropfkonferenz 1938, Washington. — [2] Schneider: Helvet. med. Acta **1**, H. 1 (1936). — [3] Schneider: Klin. Wschr. **1938**, S. 542. — [4] Schneider: Arch. klin. Chir. **192**, 462 (1938). — [5] Haase: Bruns Beiträge **168**, 64 (1938).

kanntlich tritt die E-Avitaminose bei Ratten nach außen überhaupt nicht in Erscheinung, die E-frei ernährten Tiere zeigen keinerlei Wachstumshemmung und keine Störungen des Ablaufs der Sexualcyclen. Insbesondere handelt es sich bei dem Zustand der E-Avitaminose nicht um einen Hungerzustand, da die Tiere normalerweise an Gewicht zunehmen und sogar jahrelang auf einer E-freien Kost gehalten werden können, ohne daß sichtbare Ausfallserscheinungen auftreten. Die einzigste klinische Ausfallserscheinung der E-Avitaminose ist die Resorptionssterilität, d. h. die Erscheinung, daß die Tiere mit gesunden normal ernährten Männchen zusammengebracht, in normaler Weise trächtig werden, jedoch nicht in der Lage sind, die Jungen auszutragen.

Unter diesen Umständen mußte ein E-frei ernährtes Tier sich in besonderer Weise für die Frage der Beeinflussung der Schilddrüsentätigkeit eignen, um so mehr, als gleichzeitig gewisse zwischen Schilddrüse und Ovar bestehende Beziehungen mit in die Untersuchung einbezogen werden konnten, man also möglicherweise auch einen Aufschluß über die nähere Wirkungsweise des Vitamin E bekommen konnte. Diese Versuche haben wir im Laufe des letzten Jahres durchgeführt.

Die nachstehenden Ergebnisse wurden an einem Material von 300 Ratten, die seit 3—18 Monaten auf Vitamin-E-freier Kost gehalten wurden, angestellt.

Methodik.

Die für die Versuche bestimmten Tiere entstammen einer eigenen Zucht, die stets unter den gleichen Umweltsbedingungen gehalten wird. Die Tiere wurden im Alter von 8 Wochen mit einem Gewicht von 60—70 g auf eine Vitamin E-freie Kost gesetzt. Sie erhielten außer der in Keksform verabreichten Kost täglich frisches Wasser aus besonderen Trinkflaschen. Bei der Kostform handelt es sich um die kürzlich von Bomskov[6] beschriebene Modifikation der Evans-Diät, die besonders auf eine genügende Vitamin-B_1-Zufuhr der Tiere Rücksicht nimmt. Im Hinblick auf die Rückwirkung der B_1-Avitaminose[1–3] auf die Schilddrüse muß dies besonders hervorgehoben werden. Die Wachstumskurven unserer Tiere unterscheiden sich in keiner Weise von denen normaler Tiere; Beispiele wurden bereits in der oben erwähnten Arbeit von Bomskov gebracht.

Die Versuche wurde frühenstes nach 3 Monaten E-freier Ernährung angefangen, nachdem die Tiere etwa ein Gewicht von 180 g oder mehr erreicht hatten, d. h. ausgewachsen waren. Für die Versuche wurden sowohl solche Tiere benutzt, die bereits ein oder mehrere charakteristische Resorptionssterilitäten durchgemacht hatten, als auch solche, die während der ganzen Versuchsdauer überhaupt nicht gravide waren, von denen aber aus der ganzen Versuchsanlage und durch genügende Kontrollen sicher anzunehmen war, daß sie absolut Vitamin-E-frei seien.

Die im Laufe der Untersuchung erwähnten Präparate waren folgende:

1. Weizenkeimöl der Firma Noury-van-der-Lande Emmerich a. Rh. Es handelt sich um das in der Bomskovschen Arbeit erwähnte Standardöl, das in einer Dosis von 0,65 ccm einer Ratteneinheit in der Definition von Bomskov entspricht.

---

[6] Bomskov: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 627 (1938).

2. Tocopherol. Es wurden 2 Präparate benutzt. Erstens eine nach der Methode von Bomskov durch Hochvakuum-Destillation hergestellte Substanz, die mit dem als α-Tocopherol in der Literatur bezeichneten Präparat identisch ist. Zweitens kam ein von der Hoffmann-La Roche zur Verfügung gestelltes synthetisches α-Tocopherol zur Anwendung.

3. Thyreotropes Hormon. Benutzt wurde das von der Schering A.-G. Berlin hergestellte Präparat, das in 40 mg 500 MsE. enthält.

4. Follikelhormon. Benutzt wurde das Progynon oleosum der Schering A.-G., das pro Ampulle 0,05 mg Oestradiolmonobenzoat enthält.

Wir danken an dieser Stelle den obengenannten Firmen für die kostenlose Überlassung der genannten Präparate.

Die Methode der histologischen Untersuchung der Präparate war die allgemein übliche. Die Schilddrüsen wurden stets lebenswarm in Formol gebracht, in Paraffin gebettet und die Schnitte mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

Die im folgenden erwähnten Kastrationen wurden bei den männlichen Tieren stets auf scrotalem Wege, bei den weiblichen Tieren vom Rücken aus nach üblichem Vorgehen vorgenommen. Es wurde stets auf die quantitative Entfernung der Organe geachtet.

I. Das histologische Bild der normalen Rattenschilddrüse.

Bei einer Durchsicht der in der Literatur niedergelegten Abbildungen normaler Rattenschilddrüsen, d. h. solcher Organe, die von angeblich normal und vollwertig ernährten Ratten stammen, läßt sich die Feststellung machen, daß das histologische Bild in weitesten Grenzen schwankt. Ganz allgemein herrscht die Ansicht vor, daß die Rattenschilddrüse gegenüber den Drüsen anderer Versuchstiere, wie Kaninchen und Meerschweinchen, bereits normalerweise einen hochgradig aktivierten Zustand aufweist.

Ein fast völlig kolloidfreies Schilddrüsenbild mit stark gewuchertem Epithel soll für die Ratte die Norm sein. Auf der anderen Seite finden sich jedoch eine geringe Anzahl von Arbeiten, in denen eine normale Rattenschilddrüse charakterisiert wird als zwar deutlich aktiv, jedoch noch reichlich Kolloid enthaltend.

Wir selbst haben unsere besondere Aufmerksamkeit gerade der normalen Schilddrüse unserer Versuchstiere gewidmet, da dieses Bild für die Beurteilung irgendeiner auftretenden Veränderung, sei es einer Aktivisierung, sei es einer Ruhigstellung, maßgebend ist. Wir möchten diese Feststellung im Hinblick auf Arbeiten anderer Autoren, die die Rattenschilddrüse, ohne selbst über genügendes Kontrollmaterial zu verfügen, stets als äußerst aktiv ansprechen, besonders hervorheben.

Unsere Untersuchungen an normalen Rattenschilddrüsen wurden an Tieren verschiedener Rasse durchgeführt. Wir haben die Feststellung gemacht, daß bei wahllos gekauften Tieren die überwiegende Mehrheit der Schilddrüsen sehr kolloidarm ist, daß das Organ hochgradig aktiviert ist. Daneben fanden sich jedoch stets Tiere mit weitgehend ruhiggestellten Schilddrüsen, ohne daß es möglich war, die Ursache dieses abweichenden Verhaltens sicherzustellen. Im allgemeinen kann man jedoch sagen, daß die Schilddrüsen von Ratten, die aus Süddeutschland bezogen wurden,

durchweg erheblich stärker aktiv waren, als die Schilddrüsen von Tieren, die aus Norddeutschland kamen.

Es ergibt sich also aus diesem Befund die unumstößliche Forderung, bei Untersuchungen über irgendeine Beeinflussung der Schilddrüsen-

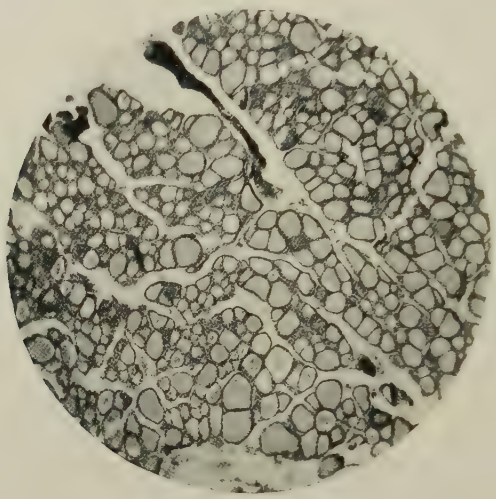


Abb. 1. Schilddrüse einer normal ernährten Ratte.

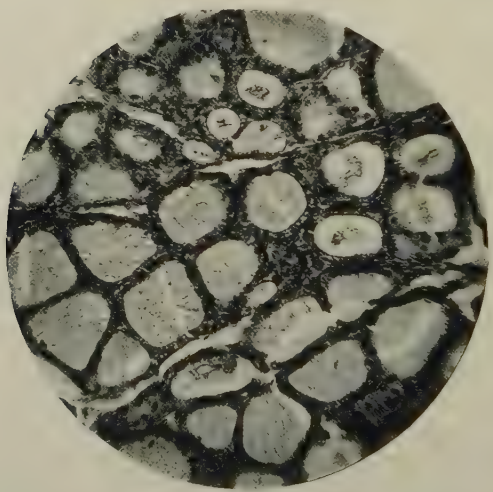


Abb. 2. Schilddrüse der Abb. 1 in starker Vergrößerung.

struktur stets an Tieren derselben Abstammung zu arbeiten. In den nachstehenden Versuchen wurde diese Forderung weitgehend erfüllt, indem nur Tiere einer reinen Wistarrasse benutzt wurden, die im Labora-

torium seit 8 Jahren gezüchtet und mit einer Standardkost ernährt wurden, deren Bestandteile stets von denselben Stellen bezogen wurden. Da es sich bei dem Rattenstamm um den von Bomskov für seine Vitaminversuche benutzten handelt, der von Kiel nach Hamburg und Freiburg gebracht wurde, haben wir von vornherein die Futterbestandteile für die Standardkost von Kiel bzw. Hamburg bezogen, um jede Möglichkeit einer alimentären Beeinflussung der Schilddrüse durch in Süddeutschland verfütterte Kost auszuschließen.

Bei der Untersuchung der normalen Schilddrüse unseres Rattenstammes ergibt sich nun, daß wir stets (abgesehen von jahreszeitlichen Schwankungen) ein äußerst gleichmäßiges Schilddrüsenbild finden. Es handelt sich, wie aus Abb. 1 und 2 hervorgeht, um eine Schilddrüse, die zwar deutlich aktiv ist, jedoch noch reichlich Kolloid enthält.

Es handelt sich also bei den Schilddrüsen unseres Rattenstammes durchaus nicht um das Bild, das in der Literatur vorwiegend als Norm für die Ratte angesehen wird. Da die Haltung und Pflege unserer Tiere mit der größtmöglichen Sorgfalt durchgeführt wird, glauben wir, daß die Haltungsbedingungen für diese Diskrepanz verantwortlich sind. Es ist hier eine bekannte Tatsache, daß Lichtverhältnisse und Temperaturverhältnisse, ganz abgesehen von der Kost, die Schilddrüsenstruktur wesentlich beeinflussen.

Wir möchten deshalb die Ursache für die Auffassung, daß die normale Rattenschilddrüse hochgradig aktiv sei, in dem Umstand sehen, daß die betreffenden Untersuchungen an Tieren durchgeführt wurden, bei denen entweder überhaupt nicht oder nicht genügend auf die Konstanz der Haltungs-, Pflege- und Fütterungsbedingungen geachtet wurde. Es ist ja schließlich kein Wunder, wenn man bei Tieren, die in dunklen kalten Kellern gehalten wurden, eine hochgradig aktive Schilddrüse antrifft.

Es gibt jedoch noch einen Umstand, durch den man die in der Literatur niedergelegten Bilder der hochgradig aktiven Rattenschilddrüse erklären kann: Das ist die Technik der photographischen Mikroaufnahme. Wie aus Abb. 1 deutlich hervorgeht, findet man nämlich in den Schilddrüsen normaler Ratten neben Stellen mit reichlicher Kolloidfüllung auch solche, wo das Kolloid praktisch verschwunden ist und nur noch Epithel sichtbar ist. Werden diese Unterschiede bei einer namentlich bei starker Vergrößerung hergestellten Aufnahme nicht berücksichtigt, so lassen sich aus ein und derselben Schilddrüse zwei gänzlich verschiedene Mikroaufnahmen herstellen, die völlig entgegengesetzte Zustandsbilder des Organs ergeben. Es ist deshalb von größter Wichtigkeit bei Aufnahmen des histologischen Bildes der Schilddrüse, eine solche Stelle zu wählen, die einen Durchschnitt des gesamten Organs gibt. Auf diese Fehlergrenze haben wir ganz besonders Rücksicht genommen.

II. Das histologische Bild der Schilddrüse bei Avitaminose-E.

Über das Verhalten der Schilddrüse bei Vitamin-E-Mangel liegen in der Literatur bisher nur wenige Angaben vor. Nach Paal und Kleine[7] soll ein Vitamin-E-Mangel die Schilddrüse ruhigstellen, umgekehrt soll E-Zulage die Schilddrüse aktivieren. Auf der anderen Seite haben kürzlich Evans[8] und Mitarbeiter die Feststellung gemacht, daß selbst bei Ratten, die 22 Monate auf E-freier Kost gehalten wurden, keine Schilddrüsenveränderung feststellbar war. Dieser letztere Befund deckt sich nicht mit den Untersuchungen von Verzàr[9] und Mitarbeitern, die eine leichte Herabsetzung des Grundumsatzes bei E-freien Ratten feststellten.

Eine Entscheidung zugunsten der einen oder anderen Auffassung läßt sich aus der bisherigen Literatur nicht treffen. Bemerkenswert erscheinen jedoch in diesem Zusammenhang zunächst gewisse Feststellungen, nach denen bei einseitiger Ernährung die Schilddrüse weißer Ratten eine Ruhigstellung aufweist. So wird z. B. nach einer Fütterung der Tiere mit einer Kost aus vorwiegend Kohlehydrat eine Einschränkung der Tätigkeit der Schilddrüse beobachtet. Ob es sich allerdings bei diesen Kostformen um einen Vitamin-E-Mangel handelt, ist nicht zu entscheiden.

In diesem Zusammenhang dürfte es zweckmäßig sein, auf die Befunde von Paal und Kleine[7] näher einzugehen.

Die genannten Autoren kommen in ihrer Arbeit zu dem Ergebnis, daß Vitamin-E-Mangel die Schilddrüse ruhigstellt und umgekehrt eine Vitamin-E-Zufuhr aktivierend wirken soll. Bei genauer Durchsicht der Ergebnisse von Paal und Kleine handelt es sich bei den benutzten Versuchstieren jedoch wahrscheinlich überhaupt nicht um eine E-Avitaminose, da die für das Vorliegen einer solchen angewandten Kriterien (Vorhalten des Haarkleides, histologische Hodenveränderungen) nach unseren heutigen Erkenntnissen nicht ausreichen. Zudem geben die Autoren an, daß ihre Versuchstiere bereits nach einigen Wochen eingingen und in anderen Fällen während der Fütterungsperiode abnahmen. Selbst Kontrolltiere, die Vitamin-E-Zulage erhielten, überlebten 5 Wochen nur noch vereinzelt. Wir können daher der Auffassung dieser Autoren, daß die „Insuffizienz dieser Kostform nicht nur allein auf die E-Armut bezogen werden kann, sondern daß noch andere Momente für die Insuffizienz als ursächlich angenommen werden", nur zustimmen.

Nach unserer Auffassung bilden die Ergebnisse von Paal und Kleine keinen Anhaltspunkt für einen Zusammenhang von Schilddrüse und Vitamin-E. Es dürfte sich vielmehr bei ihren Versuchstieren um eine B-Avitaminose handeln.

Wir erwähnen nur, daß wirklich Vitamin-E-frei ernährte Tiere äußerlich in keiner Weise oder jedenfalls nur sehr schwierig von gesunden Kontrollen

[7] Paal u. Kleine: Beitr. path. Anat. **91**, 322 (1933). — [8] Evans: Prov. Soc. exper-Biol. a. Med. (Am.) **38**, 623 (1938). — [9] Verzàr: Biochem. Z. **246**, 19 (1931); Z. Vitaminforschg. **1**, 116 (1932).

zu unterscheiden sind, und daß sie insbesondere keine Wachstumsstörung zeigen. Die von Paal und Kleine als Kriterien der E-Armut angesehenen Hodenveränderungen sind nach Untersuchungen, über die wir an anderer Stelle berichten werden, wahrscheinlich unspezifisch. Alles in allem handelt es sich bei den von Paal und Kleine untersuchten Tieren nicht um eine E-Avitaminose, sondern um einen relativen Vitamin-B-Mangel, dessen Erscheinungen in der Literatur öfter mit einer E-Avitaminose verwechselt wurden. Wir verweisen in diesem Zusammenhang lediglich auf die von uns benutzte Kostform sowie auf die Kriterien einer wirklichen E-Avitaminose, wie sie in der Arbeit von Bomskov[6] grundsätzlich dargestellt wurden.

Nach Ausschaltung dieser Fehlerquellen haben unsere eigenen Versuche folgendes ergeben:

Die Schilddrüsenfunktion bei der E-Avitaminose.

Die Schilddrüse einer seit mindestens 3 Monaten mit E-freier Kost gefütterten weiblichen Ratte ist von dem Organ einer gleichaltrigen, normal

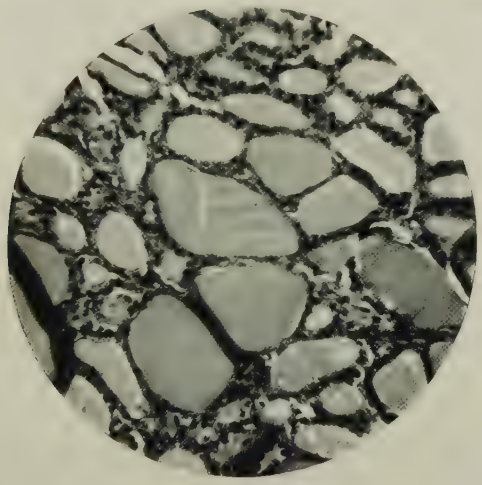


Abb. 3. Ruhigstellung der Schilddrüse bei E-Avitaminose.

ernährten Ratte wesentlich verschieden. Histologisch findet man in allen Fällen der E-Avitaminose der Ratte eine stark ruhiggestellte Drüse, charakterisiert durch große mit Kolloid prall gefüllte Follikel und erniedrigtes Epithel. In ihrem Gesamtbild ähnelt das Organ stark einer normalen Meerschweinchenschilddrüse, die durch die starke Kolloidspeicherung bekannt ist. Ein Beispiel dieser Ruhigstellung zeigt Abb. 3.

Die beschriebene Ruhigstellung wurde bei allen untersuchten Tieren, die 3 Monate und länger auf E-freier Kost gehalten wurden, gefunden, gleichgültig, ob die Tiere ein oder mehrere Resorptionsstabilitäten durch-

gemacht hatten oder ob sie überhaupt nicht gravide gewesen waren. Selbst bei Tieren, die seit 18 Monaten auf dieser Kost gehalten wurden, war die Ruhigstellung in charakteristischer Weise vorhanden. Es handelt sich also scheinbar um einen Dauerzustand des Organs, den man während der ganzen Avitaminose antrifft.

Die ersten Anzeichen für eine Ruhigstellung der Schilddrüse bei der E-Avitaminose der Ratte traten bereits nach 8wöchiger Fütterung der Tiere mit der E-freien Kost auf, d. h. etwa zu dem Zeitpunkt, zu dem die meisten Tiere bereits steril sind.

Unter den ganzen von uns untersuchten Tieren fand sich nur ein einzigesmal eine Schilddrüse, die zwar gegenüber einer normalen Rattenschilddrüse, deutlich ruhiggestellt war, aber doch nicht in dem Grade wie bei den anderen Versuchsgruppen. Es handelte sich um eine einzige Ratte, die spontan ohne eine erkennbare Ursache eingegangen war, nachdem sie im Gegensatz zu allen anderen Tieren eine fortschreitende Kachexie zeigte. Histologisch ergab die Untersuchung sämtlicher innersekretorischer Organe des genannten Tieres keinen Anhaltspunkt für eine Dysfunktion. Es handelt sich also unserer Ansicht nach bei diesem Versuchstier nur um einen Ausnahmefall, den wir der Ordnung halber hier anführen.

III. Die Wirkung des thyreotropen Hormons auf die Schilddrüse des Vitamin-E-frei ernährten Tieres.

Die völlige Ruhigstellung der Schilddrüse bei der E-Avitaminose der Ratte, die in guter Parallele zu den Ergebnissen der Grundumsatzsenkung nach Verzàr steht und die ebenfalls die ungewöhnlich starke Fettablagerung, die wir bei unseren sämtlichen Ratten gefunden haben, erklären kann, legt die Vermutung nahe, daß während der E-Avitaminose eine Störung der Hypophysenfunktion vorhanden ist. Begründet erscheint die Annahme durch die Befunde verschiedener Autoren über eine histologische Veränderung der Hypophyse während der E-Avitaminose.

Da man zudem verschiedentlich versucht hat, gerade bei der Ratte eine Ruhigstellung der Schilddrüse durch Fütterung bestimmter Kostformen zu erreichen, um das histologisch ruhige Organ später als Testreaktion auf das thyreotrope Hormon verwenden zu können, war es naheliegend, den Einfluß des thyreotropen Hormons auf die Schilddrüse bei unseren E-freien Ratten zu studieren. Wir gingen dabei ursprünglich von der Idee aus, die ruhiggestellte Schilddrüse als Testreaktion für thyreotropes Hormon zu verwenden, da es sicher leichter ist, eine Ruhigstellung der Schilddrüse durch E-Mangelkost zu erreichen, als durch eine einseitige kohlehydratreiche bzw. eiweißreiche Kostform, deren Vitamingehalt schwer zu übersehen ist. Wir haben in diesem Zusammenhang die Wirkung verschiedener Dosen thyreotropen Hormons auf die Schilddrüse unserer Vitamin-E-freien Tiere untersucht:

Die Zufuhr von je 1,25 MsE. thyreotropen Hormons an je 2 aufeinanderfolgenden Tagen aktiviert, wie aus Abb. 4 hervorgeht, die Schilddrüse deutlich.

Wir finden in allen Fällen eine beginnende Aktivierung des Kolloids, gekennzeichnet durch den charakteristischen Tröpfchensaum, sowie durch Erhöhung des Epithels, welches kubische Form annimmt. Es ist also festzustellen, daß die Empfindlichkeit der bei der E-Avitaminose ruhiggestellten Rattenschilddrüse in derselben Größenordnung wie bei normalen Meerschweinchen liegt. Erwähnt sei noch, daß bei der genannten Dosierung die Leberglykogenwerte unserer Ratten normal waren (bis zu 6%).

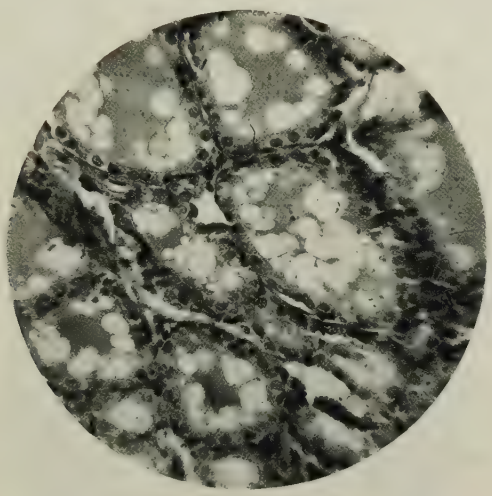


Abb. 4. Aktivierung der Ruheschilddrüse bei der E-Avitaminose durch Zufuhr von thyreotropem Hormon (2 × 1,25 MsE.).

Da eine sichere Wirkung des thyreotropen Hormons nur dann anzunehmen ist, wenn durch massive Dosen auch eine entsprechende Aktivierung der Schilddrüsen histologisch erfaßt werden kann, wurden in den folgenden Versuchen unseren E-frei-ernährten Ratten größere Dosen thyreotropes Hormon verabreicht.

Bei allen Tieren dieser Versuchsgruppe war die Schilddrüse in der Tat aktiviert, das histologische Bild derselben entsprach jedoch noch nicht ganz oder höchstens soeben einer normalen Rattenschilddrüse. Bemerkenswert ist bei den Tieren dieser Versuchsgruppe, daß das Glykogen der Leber noch völlig normal ist und daß bei den Tieren nur eine ganz geringe Gewichtsabnahme eingetreten ist.

In sämtlichen Fällen wurde zur Erzielung gleichmäßiger Glykogenwerte die übliche Lävulosevorbereitung (pro 100 g Tier 1,5 ccm 50%ige Lävuloselösung per os nach 12stündiger Nahrungskarenz) verwandt. 6 Stunden nach der Lävulosevorbereitung wurden die Tiere getötet.

Tabelle 1.

Nr.	Anfangs-gewicht	Endgewicht	Dosierung des thyreotropen Hormons in MsE.	Aktivierung der Schilddrüse	Glykogengehalt der Leber in %
1	181	175	0	0	4,0
2	181	177	0	0	3,0
3	195	190	0	0	3,9
4	163	156	0	0	1,5
5	202	189	350	++	3,8
6	176	169	350	++	1,9
7	158	142	350	++	3,7
8	150	141	1150	+++	2,0
9	199	175	2000	++++	0
10	165	144	2000	++++	1,5

Abb. 5 zeigt ein Beispiel für die Reaktion nach Zufuhr von 2000 MsE., die in 4 gleichen Dosen an 4 aufeinanderfolgenden Tagen zugeführt wurden.

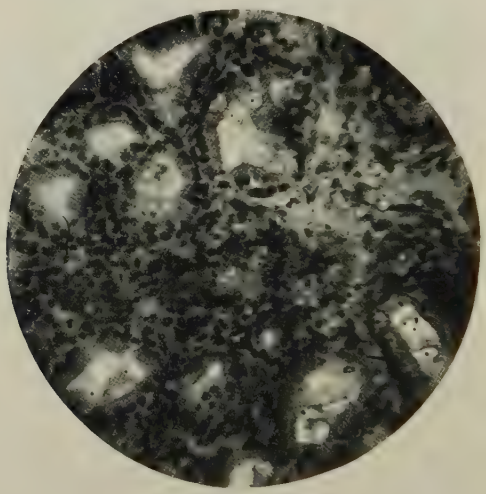


Abb. 5. Hochgradige Aktivierung der Schilddrüse bei der E-Avitaminose durch thyreotropes Hormon (4 × 500 MsE.).

Es ist ohne weiteres ersichtlich, daß eine sehr starke Reaktion an der Schilddrüse eingetreten ist, doch scheint sie uns nicht so stark zu sein, wie man nach dieser ungewöhnlich hohen Dosierung eigentlich erwarten mußte. Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß sich die bei der E-Avitaminose ruhiggestellte Rattenschilddrüse durch Zufuhr von thyreotropem Hormon aktivieren läßt. Sie spricht bereits auf Grenzdosen von 2 × 1,125 MsE. an. Die Reaktion auf größere Dosen nimmt jedoch nicht in der erwarteten Intensität bei Steigerung der Dosis zu, d. h. die Drüse reagiert auf größere Dosen weniger stark als eine Meerschweinchenschilddrüse. Aus diesem Grunde haben wir vor-

läufig von der Ausarbeitung einer Reaktion zur Auswertung des thyreotropen Hormons an der bei der E-Avitaminose ruhiggestellten Rattenschilddrüse abgesehen.

IV. Gehalt der Hypophyse Vitamin-E-frei ernährter Ratten an thyreotropem Hormon.

Der eindeutige Befund einer Ruhigstellung der Schilddrüse während der E-Avitaminose läßt sich rein theoretisch auf zweierlei Weise erklären. Einmal kann die Hypophysenfunktion verändert sein in dem Sinne, daß weniger thyreotropes Hormon zur Verfügung steht als normalerweise, zum anderen kann beim Vorliegen einer normalen Hypophysenfunktion

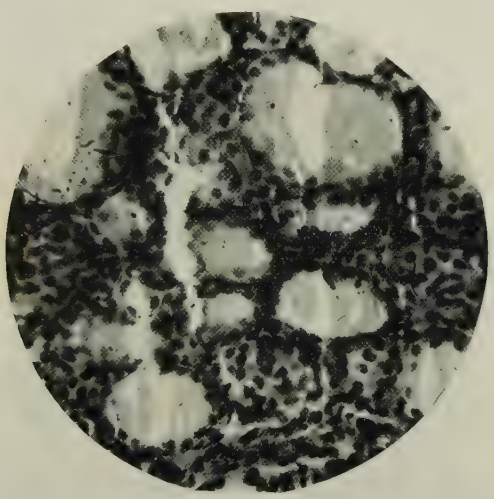


Abb. 6. Schilddrüse eines Meerschweinchens nach Implantation von 2 Hypophysen einer normal ernährten Ratte.

eine Sperre der Schilddrüse gegenüber dem thyreotropen Hormon vorhanden sein. In diesem Falle könnte man an eine erhöhte Bildung der sogenannten antithyreotropen Schutzstoffe denken. Eine Entscheidung zugunsten der einen oder anderen Hypophyse kann durch theoretische Erwägungen nicht gebracht werden, wenn auch auf Grund der in der Literatur beschriebenen Hypophysenveränderungen während der E-Avitaminose an eine Änderung der Hypophysenfunktion gedacht werden muß.

Die einzigsten Methoden, die uns heute für eine Entscheidung der aufgeworfenen Frage zugänglich sind, sind erstens die Untersuchungen der Hypophysen auf ihren Gehalt an thyreotropem Hormon und zweitens die Untersuchung des Blutes der Vitamin-E-freien Tiere auf antithyreotrope Schutzwirkung. Über die Ergebnisse beider bei uns durchgeführter Untersuchungsweisen soll im folgenden berichtet werden.

Bei der Untersuchung der Hypophysen auf thyreotropes Hormon gingen wir in üblicher Weise vor:

Die frisch entnommenen Drüsen werden steril zerrieben und in Kochsalzlösung suspensiert. Die Suspension wurde den Versuchstieren (Meerschweinchen) intraperitoneal in bestimmten Dosen ($^1/_{10}$ 2 Drüsen pro Tier) und bestimmten Abständen gespritzt. In genau derselben Weise wurden einmal die Hypophysen der gesunden normal ernährten Ratten und von gleichaltrigen E-freien Tieren geprüft.

Als Ergebnis dieser Untersuchung ist festzustellen, daß in keinem Falle und bei keiner Dosierung zwischen beiden Versuchsreihen ein Unterschied festzustellen ist, d. h. also mit anderen Worten, daß der Gehalt der Hypophysen unserer E-freien Tiere an thyreotropem Hormon normal ist. Beispiele für die beiden Reaktionen ergeben sich aus den Abb. 6 und 7.

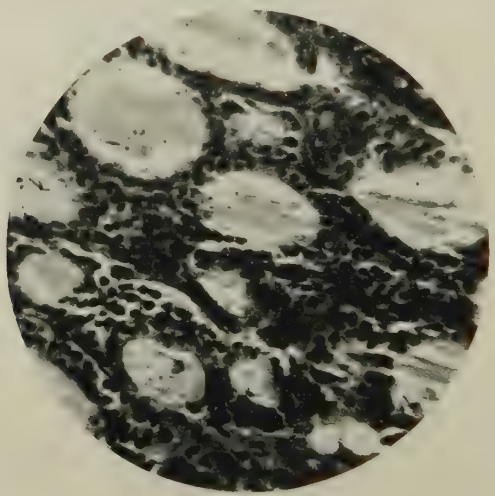


Abb. 7. Schilddrüse eines Meerschweinchens nach Implantation von 2 Hypophysen einer Vitamin-E-frei ernährten Ratte.

In genau der gleichen Weise bestimmten wir nach der üblichen Methode den Gehalt des Blutes unserer E-freien, als auch der normal ernährten Tiere an antithyreotropem Schutzstoff. Gesunden Meerschweinchen wurde das Blutserum beider Gruppen 6 Tage lang in verschiedenen Dosierungen injiziert, gleichzeitig erhielten die Tiere am 5. und 6. Tage je eine Dosis thyreotropen Hormons. Geprüft wurde die Dosierung von insgesamt 5 MsE. 24 Stunden nach der letzten Injektion wurden die Tiere getötet und die Schilddrüse untersucht.

Als Ergebnis dieser Versuchsgruppe ist festzustellen, daß ein Unterschied in der Hemmungswirkung gegenüber dem thyreotropen Hormon zwischen normalem Rattenblut und dem Blut unserer E-freien Tiere

nicht besteht. Beispiele für die völlig gleichartige Reaktion gehen aus Abb. 8 und 9 hervor.

Zusammenfassend ergibt sich, daß trotz der Ruhigstellung der Rattenschilddrüse bei der E-Avitaminose der

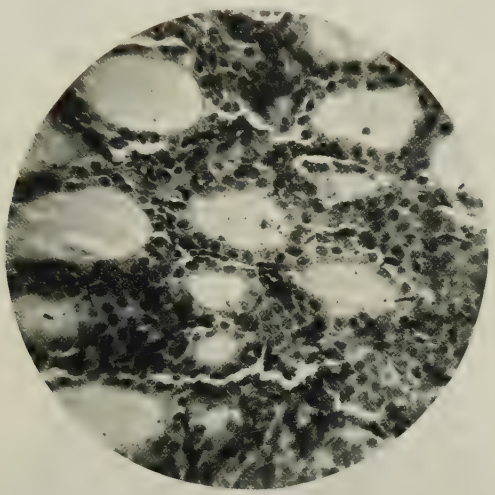


Abb. 8. ♀ Meerschweinchenschilddrüse nach 6tägiger Behandlung mit je 1 mm Serum einer normal ernährten Ratte. Das Tier erhielt am 5. und 6. Tage 5 MsE. thyreotropes Hormon.

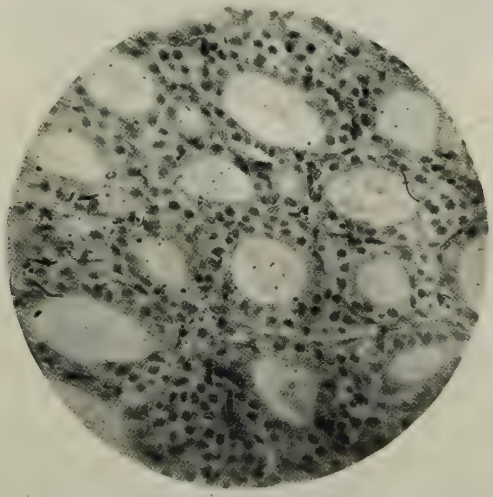


Abb. 9. Schilddrüse wie in Abb. 8. Das Tier wurde statt mit Normalserum jedoch mit Serum Vitamin-E-frei ernährter Ratten behandelt.

Gehalt der Hypophysen an thyreotropem Hormon völlig normal ist. Es ist weiter festzustellen, daß auch der Gehalt des Blutes an antithyreotropen Schutzstoffen keine Veränderung aufweist.

V. Die Wirkung der Vitamin-E-Zufuhr auf die Schilddrüsenstruktur bei der E-Avitaminose.

Die von uns eingangs erwähnte besondere Stellung der E-Avitaminose hat zu Versuchen geführt, die Erscheinung der Ruhigstellung der Schilddrüse bei der E-Avitaminose rückgängig zu machen. Durch Verabreichung von Vitamin E in Weizenkeimöl oder daraus gewonnenen Konzentraten, gelingt es in jedem Falle, die ruhiggestellte Schilddrüse der Vitamin-E-frei ernährten Ratte zu reaktivieren.

Abb. 10 zeigt ein Beispiel für die Reaktion der ruhiggestellten Rattenschilddrüse auf Zufuhr von insgesamt 2 ccm Weizenkeimöl peroral in 4 Dosen an 4 aufeinanderfolgenden Tagen. Die Tiere wurden 24 Stunden nach der letzten Injektion getötet. Es ist aus der Abbildung ohne weiteres

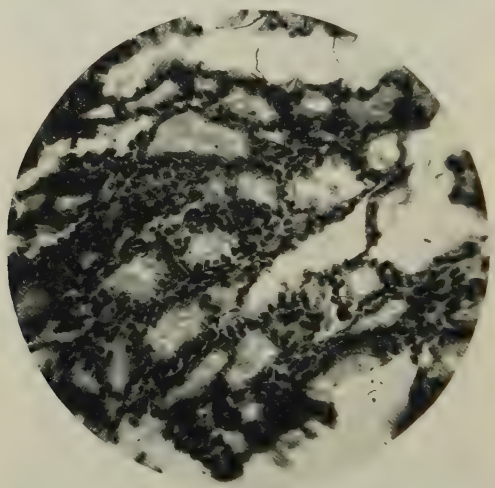


Abb. 10. Aktivierung der Schilddrüse einer Vitamin-E-frei ernährten Ratte durch Zufuhr von Vitamin E.

ersichtlich, daß die Schilddrüse gegenüber dem Zustand der reinen Avitaminose, wie er aus Abb. 1 hervorgeht, merklich aktiviert ist. Versuche, in denen die Dosis in Vitamin E sowie die Zeitdauer der Behandlung variiert wurden, haben folgendes ergeben:

Durch Verabreichung von Vitamin E in Form von Weizenkeimöl subcutan, peroral oder intrauterin wird die Schilddrüse der Vitamin-E-frei ernährten Ratte schon durch kleine Dosen sicher normalisiert, in einigen Fällen sogar stärker aktiviert als der Norm entspricht. Die wirksamen Dosen liegen bei $4 \times 0{,}5$ ccm Weizenkeimöl peroral oder 0,2 ccm Weizenkeimöl einmalig intrauterin. Die erhaltenen Bilder weichen nicht wesentlich von Beispiel Abb. 10 ab. Sie zeigen sogar in den meisten Fällen eine weniger starke Aktivierung, wie sie der normalen Schilddrüse unserer Tiere entspricht.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß die Erscheinungen der Ruhigstellung der Schilddrüse bei der E-Avitaminose für den E-Mangel spezifisch sind, d. h. sie lassen sich jederzeit durch Zufuhr von Vitamin E rückgängig machen; wobei man in einigen Fällen sogar eine stärkere Aktivierung feststellen kann, als sie der Norm unserer Tiere entspricht.

VI. Die Wirkung des Vitamins E auf die Schilddrüse eines normal ernährten Tieres.

Die Ergebnisse des letzten Abschnittes legten es nahe, den Einfluß des Vitamin E auf die Struktur einer normalen Schilddrüse zu untersuchen.

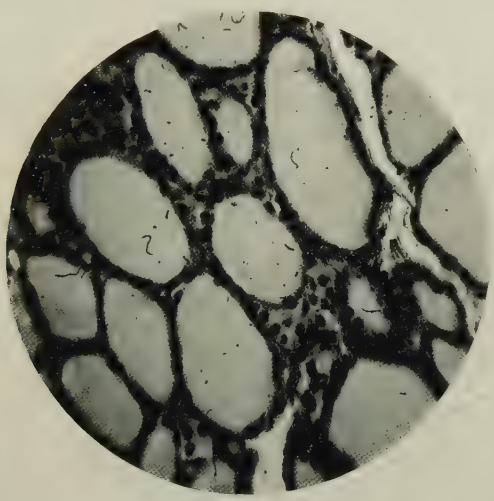


Abb. 11. Meerschweinchenschilddrüse nach Behandlung des Tieres mit Weizenkeimöl.

Da nach dem Vorhergehenden eine Aktivierung der Schilddrüse durch Vitamin E möglich war, wurden die Versuche an gesunden Meerschweinchen durchgeführt, die unter physiologischen Bedingungen eine ruhige Schilddrüse besitzen und sich zur Prüfung von Stoffen, die eine Aktivitätssteigerung bewirken, vorzüglich eignen.

In den Versuch kamen verschiedene Gruppen von Meerschweinchen im Gewicht von 180—240 g, die mit Rüben und Heu ernährt und unter konstanten Bedingungen gehalten wurden. Die Tiere wurden gruppenweise mit Vitamin-E-Trägern behandelt, und zwar einmal mit Weizenkeimöl, das nach der Methode von Bomskov ausgewertet wurde und in 0,65 ccm eine Ratteneinheit enthielt und zweitens mit einem synthetischen α-Topopherol, das sich im Rattentest in einer Dosis von 6 mg wirksam zeigte.

Benutzt wurden folgende Dosierungen von Weizenkeimöl: 0,5 g pro Tag und Tier, 4—10 Tage lang, von α-Tocopherol 0,5 g in einer einmaligen Dosis. Die mit α-Tocopherol behandelten Tiere wurden am 6. Tage nach der Behandlung untersucht.

Trotz der verschiedenen Dosierungen der beiden wirksamen Vitamin-E-Träger und trotz der sehr hohen α-Tocopheroldosis war in keinem der gesamten Versuche eine Aktivitätssteigerung der Meerschweinchenschilddrüse nachweisbar. Ein Beispiel geht aus Abb. 11 und 12 hervor.

Zusammenfassend ergibt sich also, daß das Vitamin E im Hypervitaminoseversuch nicht in der Lage ist, die normalerweise ruhige Meerschweinchenschilddrüse zu aktivieren. Erscheinungen einer E-Hypervitaminose wurden nicht beobachtet.

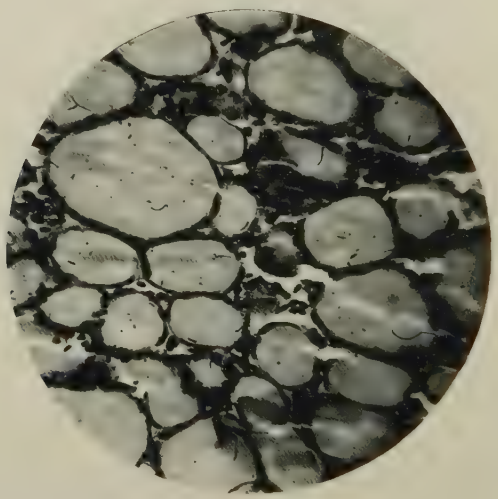


Abb. 12. Meerschweinchenschilddrüse nach Behandlung des Tieres mit α-Tocopherol.

VII. Über das Zusammenwirken von Vitamin E und Follikelhormon auf die Schilddrüse.

Da eine Aktivitätssteigerung der Schilddrüse an einer normalen Ratte infolge der physiologischen Aktivität des Organs nicht nachweisbar ist, wurde versucht, die durch die Kastration ruhiggestellte Schilddrüse zu aktivieren.

Bei der weiblichen Ratte tritt nach der Kastration bereits nach 10—11 Tagen eine ruhiggestellte Schilddrüse auf, gekennzeichnet durch Vergrößerung der Follikel, Abflachung des Follikelepithels und Ausfüllung des Follikellumens mit reichlich eosinophilem Kolloid.

Diese strukturelle Umformung der Drüse wurde namentlich von Schultze[10], Schneider[11] und von Gumbrecht und Loeser[12, 13] gefunden.

Wir haben in unseren Versuchen durch Kastration von weiblichen Ratten die Ruhigstellung der Schilddrüse wieder bestätigen können, darüber hinaus haben wir auch die Feststellung gemacht, daß auch bei der männlichen Ratte, die Kastration in gleicher Weise eine Ruheschilddrüse herbeiführt. Ein Beispiel für die Ruhigstellung der Kastratenschilddrüse zeigt Abb. 13.

Nach den Untersuchungen von Gumbrecht und Loeser lassen sich die bei weiblichen Ratten nach der Kastration auftretenden Schilddrüsenveränderungen weder durch Injektion Follikelhormonen noch durch

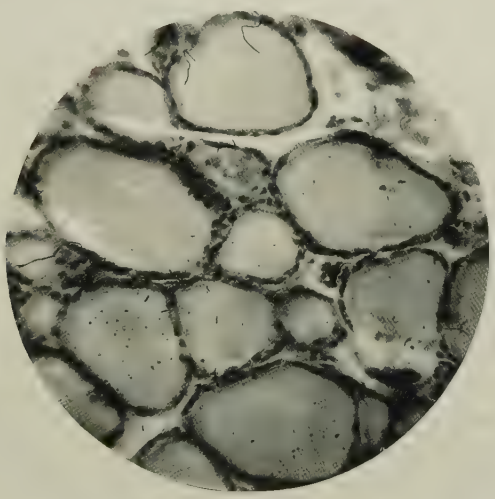


Abb. 13. Schilddrüse einer kastrierten weiblichen Ratte.

Corpus-luteum-Präparate, noch durch Transplantation von Ovarien rückgängig machen. Es ergibt sich damit der Befund, daß für das Zustandekommen der Kastrationsveränderungen in der Schilddrüse das Fehlen des Ovars bzw. der Hormone des Ovars nicht verantwortlich ist. Gumprecht und Loeser haben weiterhin die Feststellung gemacht, daß auch nach Eröffnung der Ovarkapsel oder nach Unterbindung der Tuben oder Exstirpation des Uterus in der Schilddrüse weiblicher Ratten dieselben Veränderungen eintreten, wie nach der Kastration. Sie zeigten weiter, daß oestrogene Substanzen nur dann in der Lage sind eine Schilddrüsenwirkung auszuüben, wenn sie der Passage durch den Uterus unterworfen

---

[10] Schultze: Arch. Gynäk. **158**, 754 (1934). — [11] Schneider: Arch. klin. Chir. **186**, 267 (1936). — [12] Gumbrecht u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 345 (1938). — [13] Andersen u. Kennedy: J. Physiol. (Brit.) **79**, 1 (1933).

werden. Die Kastrationsveränderungen in der Schilddrüse lassen sich beheben nach intrauteriner Injektion oestrogener Substanzen. Gumbrecht und Loeser ziehen aus diesem Befund den Schluß, daß zwischen Ovar und Schilddrüse der Uterus relaisartig eingeschaltet ist.

Um schilddrüsenwirksam zu werden, muß das Follikelhormon entweder eine chemische Umwandlung erfahren oder aber es muß im Uterus die Produktion einer weiteren Substanz angeregt werden, die ihrerseits wieder direkt oder auf dem Nervenwege auf die Schilddrüse wirkt.

Es lag nahe, diesem Befund im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen besondere Beachtung zu schenken. Vergleicht man den Zustand des Kastraten mit dem Zustand der E-Avitaminose weiblicher Ratten, so lassen sich gewisse bemerkenswerte Parallelen aufstellen. Rein äußerlich ist in beiden Fällen das Haarkleid der Tiere in gleicher Weise verändert, es fehlt in beiden Fällen weiter der sogenannte Mutterinstinkt der Tiere, z. B. nach Kastration eines gesunden trächtigen Weibchens oder nach Zufuhr von Vitamin bei einem Vitamin E für ernährte gravide Weibchen in solchen Dosen, daß der normale Graviditätsablauf nur eben gewährleistet wird. Am bemerkenswertesten ist jedoch die auffallende Parallelität zwischen beiden Zuständen hinsichtlich der Reaktionslage der Schilddrüse.

Sowohl beim kastrierten Tier wie auch beim Vitamin-E-frei ernährten Tier ist die Schilddrüse in gleicher Weise ruhiggestellt. In beiden Fällen läßt sich zeigen, daß der Gehalt der Hypophyse an thyreotropem Hormon überraschenderweise nicht erniedrigt, sondern eher leicht erhöht, jedenfalls aber normal ist. In beiden Fällen ist weiter eine Erhöhung der antithyreotropen Schutzfunktion des Blutes nicht nachweisbar. Bemerkenswerterweise äußert sich die Ruhigstellung der Schilddrüse bei beiden Zuständen in einer schon äußerlich erkennbaren verstärkten Fettablagerung.

Als weitere Erscheinung ist bei beiden Zuständen eine herabgeminderte Reaktionsfähigkeit der Schilddrüse gegenüber thyreotropem Hormon sichergestellt. Es ergibt sich somit die Tatsache, daß jedenfalls hinsichtlich der Reaktionslage der Schilddrüse die Zustände des Kastraten und der E-Avitaminose bei weiblichen Ratten völlig identisch sind.

Es lag deshalb nahe, Versuche über die Schilddrüsenwirkung des Follikelhormons beim E-freien Tier anzustellen. Wir haben E-frei ernährte weibliche Ratten mit großen Dosen von Oestron oder Oestradiolbenzoat in öliger Lösung behandelt und in keinem Falle nach subcutaner Zufuhr irgendeine Wirkung auf die Schilddrüse gesehen. Ganz im Sinne der oben dargelegten Hypothese jedoch ergibt sich bei intrauteriner Zufuhr von Oestron eine deutliche Aktivierung der Schilddrüse des E-freien Tieres. Wir kommen also zu der Feststellung, daß die Follikelhormone am E-frei ernährten Tier genau so wirken wie beim normal ernährten kastrierten Tier.

Auf der anderen Seite war es nötig, die Frage zu klären, ob das Vitamin E wieder im Sinne der obigen Hypothese in der Lage sei, die

Schilddrüse eines normal ernährten kastrierten Weibchens zu reaktivieren. Wir haben normal ernährten kastrierten weiblichen Ratten Vitamin E subcutan bzw. intrauterin zugeführt und in keinem Falle eine Aktivierung der Kastratenschilddrüse erzielt, die unseren normalen Rattenschilddrüsen entspricht.

Wir können also feststellen, daß die Ruhigstellung der Schilddrüse bei Vitamin-E-Mangel rückgängig gemacht werden kann.

1. Durch Zufuhr von Vitamin E subcutan oder intrauterin.
2. Durch Zufuhr von Follikelhormon intrauterin.

Wir können weiter die Schilddrüse eines normal ernährten kastrierten Tieres reaktivieren durch

1. Follikelhormonzufuhr intrauterin,
2. nicht dagegen durch Vitamin E subcutan oder intrauterin.

In Bestätigung dieser Versuche gelingt es auch bei einem Vitamin-E-frei ernährten kastrierten Tier, d. h. bei einem Organismus, dem sowohl das Vitamin E wie die Ovarialhormone entzogen sind, nicht, die Schilddrüse durch Zufuhr von Vitamin E zu reaktivieren.

Zusammenfassend ergibt sich also, daß das Vitamin E nicht direkt auf die Schilddrüse wirkt, sondern durch Vermittlung des Ovars wirksam wird. Das Follikelhormon ist dagegen auch in Abwesenheit von Vitamin E Schilddrüsen wirksam.

VIII. Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die früheren Schilddrüsenuntersuchungen bei den Avitaminosen A, B_1, C und D hatten durch die Gleichheit im Auftreten der Ruheschilddrüse die Annahme einer zentralen Störung als ursächlichen Faktor nahegelegt. Der bei diesen Avitaminosen immer vorhandene Gewichtsabfall mit den ausgeprägten, im klinischen Gesamtbild deutlich zutage tretenden allgemeinen Krankheitserscheinungen bietet aber so viele einschneidende Abweichungen vom Normalzustand, daß sich schon hieraus ohne weiteres beträchtliche Schwierigkeiten für die weitere Analyse ergeben müssen. Alle diese Störungen sind im Bilde der E-Avitaminose nicht vorhanden. Die regelmäßige Gewichtszunahme, der gute Zustand auch für die Dauer von 1—2 Jahren sprechen eindeutig für das Wohlbefinden der Tiere.

Da nun unsere Hypophysenuntersuchungen Abweichungen im Gehalt an thyreotropem Hormon nicht aufzeigen konnten, können für die Ruheschilddrüse bei der E-Avitaminose Veränderungen der Hypophyse selbst kaum verantwortlich gemacht werden.

Dies ist um so auffälliger, als ja die Hypophyse bei gesunden Tieren an sich das Vitamin-E-reichste Organ darstellt. Nun kann die Schilddrüse ohne Zweifel durch ganz verschiedene innersekretorische Gegenregulationen ruhiggestellt werden, eine von ihnen ist durch die Zunahme des antithyreotropen Schutzstoffes im Blute und Serum begründet. Auch hierfür konnten wir bei der E-Avitaminose keinen Anhaltspunkt bringen.

Dies mußte zwangsläufig die Aufmerksamkeit auf die gleichartigen Veränderungen bei der Kastration hinlenken, die gleichfalls eine Ruheschilddrüse ohne Veränderungen im Gehalt der Hypophyse an thyreotropem Wirkstoff zur Folge hat. Die gleichartige Natur der zur Ruhigstellung der Schilddrüse nach Kastration oder Vitamin-E-Mangel führenden endocrinen Regulationsstörung ergibt sich aus dem Befund, daß in beiden Fällen die Ausfallserscheinungen von seiten der Schilddrüse durch Zufuhr von Follikelhormon (intrauterin) behoben werden können. Da die Ursache für die Ruhigstellung der Schilddrüse nach Kastration jedoch nach Loeser in der Verhütung der Uteruspassage des Follikelhormons zu suchen ist, muß auch während der E-Avitaminose ein ähnlicher Vorgang gestört sein, der entweder mit der Produktion der Follikelhormone im Ovar oder aber mit der Uteruspassage irgend etwas zu tun hat. Das würde heißen, daß die Schilddrüsenveränderungen der E-Avitaminose lediglich sekundärer Natur sind und durch Änderung der Reaktionslage des Ovars oder eventuell des Uterus zustande kommen.

Eine gewisse Stütze für diese Auffassung bildet der in entgegengesetzter Richtung liegende Befund, daß das Vitamin E nicht direkt auf die Schilddrüse wirkt, sondern nur über das Ovar, d. h. über die Follikelhormone wirksam wird.

Die beschriebenen Versuche ergeben jedenfalls gewisse Anhaltspunkte dafür, daß die Ovarfunktion bei der E-Avitaminose in ähnlicher Weise gestört ist wie nach Kastration. Ein völliges Aufhören der Follikelhormonproduktion des Ovars während der Avitaminose E ist jedoch nicht wahrscheinlich, da die Tiere in normaler Weise trächtig werden können. Man kann vielleicht zur Erklärung der Befunde die Auffassung vertreten, daß das Vitamin E eine Art Aktivator des Follikelhormons darstellt oder aber gewisse gegen die Follikelhormonwirkung oder -produktion gerichtete Hemmungsmechanismen beseitigt. Für eine solche Auffassung spricht der Befund, daß es gelingt, die oestrogene Wirkung eines Ovarextraktes um mehrere 100 % zu steigern, wenn die Zufuhr in Weizenkeimöl (Vitamin-E-Träger) erfolgt statt in Vitamin-E-freien Pflanzenölen. Daß es sich hierbei wahrscheinlich nicht nur um Resorptionsfragen handelt, ergibt sich aus der Erscheinung, daß eine Aktivierung nur bei Ovarrohextrakten gesehen wurde, nicht aber bei Verwendung reiner kristallisierter Hormone.

Die vorstehend beschriebenen Befunde lassen sich bisher mit dem Hauptsymptom der E-Avitaminose der Resorption der Fette, die man meistens als Dysfunktion des Gelbkörpers anzusehen geneigt ist, nur schwer in Einklang bringen. Versuche zur weiteren Aufklärung der Wirkungsweise des Vitamins E und der Beziehung dieses Vitamins zum Ovar sind eingeleitet.

COUNTWAY LIBRARY
HC 6EB2

413 212

J. HOLZER
BINDER
BOSTON, MASS.